



# VLIV PULZNÍHO MAGNETICKÉHO POLE NA CHOVÁNÍ MIKROORGANISMŮ

## Bakalářská práce

*Studijní program:* B3944 – Biomedicínská technika  
*Studijní obor:* 3901R032 – Biomedicínská technika  
*Autor práce:* **Daniel Vlk**  
*Vedoucí práce:* Ing. Martin Truhlář, Ph.D.





# EFFECT OF PULSED MAGNETIC FIELDS ON MICROBIAL BEHAVIOUR

## Bachelor thesis

*Study programme:* B3944 – Biomedical Technology  
*Study branch:* 3901R032 – Biomedical Technology

*Author:* **Daniel Vlk**  
*Supervisor:* Ing. Martin Truhlář, Ph.D.



## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Daniel Vlk**  
Osobní číslo: **Z12000133**  
Studijní program: **B3944 Biomedicínská technika**  
Studijní obor: **Biomedicínská technika**  
Název tématu: **Vliv pulzního magnetického pole na chování mikroorganismů**  
Zadávající katedra: **Ústav zdravotnických studií**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

#### Cíle práce:

Seznámení se s problematikou pulzního magnetického pole.

Vypracování potřebné teorie a zpracování rešerše na dané téma elektromagnetického pole v biologických aplikacích se zaměřením na pulzní pole.

Zpracování metodiky měření a vyhodnocení vzorků (bakteriální kmeny jako například Escherichia Coli a Micrococcus Luteus), které jsou ovlivňovány magnetickým pulzním polem.

Teoretická východiska (včetně výstupu z BP):

V laboratoři se budou pozorovat a vyhodnocovat laboratorní modely s reálnými mikroorganismy. Součástí práce bude měření fyzikálních a chemických parametrů daných modelů. Ve světové literatuře je publikováno, že pulzní magnetické pole má vliv na biologické tkáně a bakteriální populace (vyjadřovány jsou pozitivní i negativní vlivy v závislosti na frekvenci a intenzitě elektromagnetického pole). Cílem práce bude hodnocení pulzního pole na mikroorganismy a prověření daných hypotéz vlivu pulzního magnetického pole.

Výzkumné předpoklady:

Hlavní výzkumnou otázkou práce je zaměření se na hodnocení pulzního magnetického pole a jeho vlivu na bakteriální populace. Dosažené výsledky, které budou samostatně v laboratoři změřeny, budou porovnány s literaturou (dle odborné literatury viz níže a dalších vhodných literárních zdrojů).

Metoda:

Kvantitativní

Technika práce, vyhodnocení dat:

Empiricky se bude pozorovat dané měření, a experiment se bude vyhodnocovat jak po stránce porovnávacích experimentů (vzorek vystavený působení pulzního magnetického pole v porovnání s kontrolním vzorkem) a dále se provede základní statistické vyhodnocení obou experimentů.

Místo a čas realizace výzkumu:

Práce bude probíhat v laboratořích CxI (budova L), laboratoř biotechnologií, a to v měsících prosinec 2014 až březen 2015.

Vzorek:

Hodnoceným vzorkem budou bakteriální populace (například Escherichia Coli a Micrococcus Luteus), kde dané kmeny ne/budou vystaveny pulznímu magnetickému poli.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

**50 - 70 stran**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

**viz příloha**

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Martin Truhlář, Ph.D.**


Ústav mechatroniky a technické informatiky

Datum zadání bakalářské práce:


**30. dubna 2014**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**30. dubna 2015**

  
prof. Dr. Ing. Zdeněk Kůs  
rektor



  
Mgr. Marie Froňková  
pověřena vedením ústavu

V Liberci dne 31. ledna 2015

# Příloha zadání bakalářské práce

## Seznam odborné literatury:

1. MAYER, Daniel. Aplikovaný elektromagnetismus: úvod do makroskopické teorie elektromagnetického pole pro elektrotechnické inženýry. 2. vyd. České Budějovice: Kopp, 2012, 538 s. ISBN 978-80-7232-436-1.
2. NOVOTNÝ, Karel. Elektromagnetické pole a vlny. Dotisk 2. vyd. Praha: ČVUT, 2004, 198 s. ISBN 80-01-02429-6.
3. KATO, M.: Electromagnetics in Biology, Springer 2006, ISBN-13 978-4-431-27913-6.
4. SEDLÁK, Bedřich. Elektřina a magnetismus. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Academia, 2002, 632 s. ISBN 80-200-1004-1.
5. Furik, Daniel. Vliv elektromagnetického pole na lidský organismus. Plzeň, 2013. bakalářská práce (Bc.). ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI. Fakulta elektrotechnická. Dostupné z: <https://portal.zcu.cz/portal/prohlizeni.html>
6. Bohatá, Martina. Vliv magnetického pole na bakteriální biofilm. Bakalářská práce, 2013. [online]. Dostupné z: [https://stag-new.tul.cz/wps/PA\\_StagPortletsJSR168/KvalifPraceDownloadServlet\\_typ=1&adipidno](https://stag-new.tul.cz/wps/PA_StagPortletsJSR168/KvalifPraceDownloadServlet_typ=1&adipidno)
7. CAREY, Roberta. SCHUSTER, Mindy. MCGOWAN, Karin. Lékařská mikrobiologie v klinických případech. 1.vyd. Praha: Triton, 2011. 321 s. ISBN 978-80-7387-480-3
8. PHARMA-REPORTS. Klinicky významné bakterie. 1. Vyd. Praha: Triton, 2012. 123 s. ISBN 978-80-7387-588-6
9. RULÍK, M. a kol. Mikrobiální biofilmy. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. 447 s. ISBN 978-80-244-2747-8
10. AMIALI, M., & NGADI, M. O. (2012). 14 - Microbial decontamina 11. DAVIES, E., OLLIFF, C., WRIGHT, I., WOODWARD, A., & KELL, D. (1999). A weak pulsed magnetic field affects adenine nucleotide oscillations, and related parameters in aggregating Dictyostelium discoideum amoebae. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 48(1), 149162. doi:10.1016/S0302-4598(98)00237-2
12. FOJT, L., Klapetek, P., STRAŠÁK, L., & VETTERL, V. (2009). 50 Hz magnetic field effect on the morphology of bacteria. Micron, 40(8), 918922. doi:10.1016/j.micron.2009.06.009
13. GOODMAN, E. M., GREENEBAUM, B., & FREDERIKSEN, J. (1993). Effect of pulsed magnetic fields on human umbilical endothelial vein cells. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 32(2), 125132. doi:10.1016/0302-4598(93)80030-X
14. GOODMAN, E. M., SHARPE, P. T., GREENEBAUM, B., & MARRON, M. T. (1986). Pulsed magnetic fields alter the cell surface. FEBS Letters, 199(2), 275278. doi:10.1016/0014-5793(86)80494-X
15. NORIEGA-LUNA, B., SABANERO, M., SOSA, M., & AVILA-RODRIGUEZ, M. (2011). Influence of pulsed magnetic fields on the morphology of bone cells in early stages of growth. Micron, 42(6), 600607. doi:10.1016/j.micron.2011.02.005
16. RADHAKRISHNAN, R., & RANJITHA KUMARI, B. D. (2012). Pulsed magnetic field: A contemporary approach offers to enhance plant growth and yield of soybean. Plant Physiology and Biochemistry, 51, 139144. doi:10.1016/j.plaphy.2011.10.017
17. STRATTON, D., LANGE, S., & INAL, J. M. (2013). Pulsed extremely low-frequency magnetic fields stimulate microvesicle release from human

monocytic leukaemia cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 430(2), 470475. doi:10.1016/j.bbrc.2012.12.012

18. TUFFET, S., DE SEZE, R., MOREAU, J.-M., & VEYRET, B. (1993). Effects of a strong pulsed magnetic field on the proliferation of tumour cells in vitro. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 30, 151160. doi:10.1016/0302-4598(93)80073-4

## Prohlášení

Byl jsem seznámen s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 30.4. 2015

Podpis: Daniel Vlk

**Poděkování:**

Tímto bych chtěl poděkovat Ing. Martinu Truhlářovi, Ph.D za vedení a pomoc při zpracování bakalářské práce a Ing. Lucii Křiklavové za cenné rady a připomínky z oblasti mikrobiologie.



**Anotace v českém jazyce**

**Jméno a příjmení autora:** Daniel Vlk

**Institute:** Technická Univerzita v Liberci: Ústav zdravotnických studií

**Název práce:** Vliv pulzního magnetického pole na chování mikroorganismů

**Vedoucí práce:** Ing. Martin Truhlář, Ph.D.

**Počet stran:** 60

**Počet příloh:** 8

**Rok obhajoby:** 2015

**Souhrn:**

V této bakalářské práci je cílem seznámit se s problematikou pulzního magnetického pole, následně popsat elektromagnetické pole v biologických aplikacích právě se zaměřením na pulzní pole. Poté zkoumat vliv magnetického pulzního pole na bakteriální kmeny jako je *Escherichia Coli* a *Micrococcus Luteus* a vyhodnotit vzorky pomocí specifických metod, mezi které patří fluorescenční hodnocení živé/mrtvé bakterie. Dále hodnocení kultivovatelnosti a na základě těchto metod posoudit do jaké míry jsou ovlivněné kmeny magnetickým pulzním polem a výsledky porovnat s dostupnou světovou literaturou.

**Klíčová slova:**

Elektromagnetické pole, *Escherichia Coli*, gram – negativní, rozdělení magnetik, permeabilita

**Anotace v anglickém jazyce**

**Name and surname:** Daniel Vlk

**Institution:** Technical University of Liberec: Institute of Health Studies

**Title:** Effect of pulsed magnetic fields on microbial behaviour

**Supervisor:** Ing. Martin Truhlář, Ph.D.

**Pages:** 60

**Apendix:** 8

**Year:** 2015

**Summary:**

The aim is to introduce the issue of pulsed magnetic field in this bachelor thesis, and then describe the electromagnetic field in biological applications just focusing on pulsed field. The evaluation will be of the magnetic field pulse on bacterial strains such as *Escherichia coli* and *Micrococcus Luteus* will be performed using specific methods of live/dead bacteria and cultivate method. Based on these methods to assess to what extent they are affected species by magnetic field pulse and compare the results with available world literature.

**Key words:**

Electromagnetic fields, *Escherichia Coli*, gram – negative, classification of magnetics, permeability

## Obsah

|  |    |
|--|----|
| Seznam zkratk a symbolů .....  | 13 |
| 1 Úvod .....   | 14 |
| 2 Magnetické pole .....  | 15 |
| 2.1 Maxwellovy rovnice.....  | 15 |
| 2.2 Rozdělení magnetik.....  | 16 |
| 2.3 Vliv prostředí na elektromagnetické pole .....   | 17 |
| 2.4 Permeabilita.....  | 18 |
| 2.5 Vztah mezi vektory B a H.....  | 19 |
| 2.6 Hysterezní smyčka .....  | 19 |
| 2.7 Stacionární magnetické pole .....  | 20 |
| 2.8 Pulzní obdélníkové pole.....   | 22 |
| 3 Bakterie.....  | 24 |
| 3.1 Escherichia coli .....   | 24 |
| 3.2 Epidemiologický význam <i>Escherichia coli</i> .....   | 25 |
| 3.3 Vliv vnějších a vnitřních faktorů a technologických procesů.....                                       | 25 |
| 3.4 Popis Escherichie coli .....   | 25 |
| 3.5 Srovnání nízkofrekvenčních magnetických účinku na bakterii <i>Escherichia coli</i><br>27               |    |
| 4 Účinky elektromagnetického pole na bakterie .....  | 30 |
| 5 Micrococcus Luteus.....  | 32 |
| 6 Dělení bakterií na Grampozitivní a Gramnegativní bakterie .....  | 33 |
| 7 Účinky vysokého a nízkého frekvenčního pulzního elektromagnetického pole<br>na růst <i>E. coli</i> ..... | 35 |
| 8 MATERIÁLY A METODY.....  | 36 |
| 8.1 Generátor pulzního magnetického pole .....   | 36 |
| 8.2 Ředění roztoku bakterie <i>E. Coli</i> .....   | 38 |
| 8.3 Výsev bakterií .....   | 39 |
| 8.4 Vyhodnocování počtu bakterií .....   | 39 |
| 8.5 Absorbance.....  | 40 |
| 8.6 Fluorescence.....  | 41 |
| 9 Měření bakterie <i>E.coli</i> .....  | 44 |
| 9.1 Výsledky z KTJ a fluorescence.....   | 46 |

|    |                                       |    |
|----|---------------------------------------|----|
| 10 | Závěr .....                           | 51 |
| 11 | Zdroje.....                           | 52 |
|    | Seznam příloh .....                   | 55 |
|    | Seznam obrázků, tabulek a grafů ..... | 60 |

## Seznam zkratek a symbolů

| Symbol        | Veličina                    | Jednotka         |
|---------------|-----------------------------|------------------|
| H             | Intenzita magnetického toku | $\text{Am}^{-1}$ |
| B             | Magnetická indukce          | T                |
| E             | Intenzita elektrického pole | $\text{Vm}^{-1}$ |
| D             | Elektrická indukce          | $\text{Cm}^{-1}$ |
| $\Psi$        | Elektrický indukční tok     | C                |
| $\Phi$        | Magnetický indukční tok     | Wb               |
| $\rho$        | Objemová hustota náboje     | $\text{Cm}^{-3}$ |
| Q             | Elektrický náboj            | C                |
| J             | Proudová hustota            | $\text{Am}^{-2}$ |
| $\mu$         | Permeabilita                | $\text{Hm}^{-1}$ |
| F             | Síla                        | N                |
| v             | Rychlost                    | $\text{ms}^{-1}$ |
| T             | Čas                         | s                |
| S             | Obsah                       | $\text{m}^2$     |
| $\gamma$      | Konduktivita                | $\text{Sm}^{-1}$ |
| $\varepsilon$ | Permitivita                 | $\text{Fm}^{-1}$ |
| f             | Frekvence                   | Hz               |
| c             | Látkové množství            | $\text{mol/l}$   |
| l             | délka                       | m                |
| KTJ           | kolonii tvořící jednotka    |                  |

# **1 Úvod**

Tématem této bakalářské práce je vliv pulzního magnetického pole na chování mikroorganismů. Již od nepaměti byly pozorovány vlastnosti magnetického pole, kde například lidé ve starověku pozorovali vzájemné silové působení některých nerostů, například nerost známý jako magnetit přitahoval železné předměty. Poté co byl vyroben kompas, tak zájem o magnetismus vzrostl. V dnešní době už se s magnetickým polem setkáváme na každém kroku, nejen že si uvědomujeme působení magnetické pole Země, ale i my samy a každý živý organismus má své vlastní magnetické pole. Dnes existuje mnoho možností využití magnetického pole a jeho účinek na živé i neživé látky. V teoretické části práce budu zkoumat problematiku elektromagnetického pole v biologických aplikacích se zaměřením na pulzní magnetické pole, dále popíšu použité bakterie při výzkumu, jako je *Escherichia coli* a *Micrococcus Luteus*. V praktické části se zaměřím na hodnocení získaných poznatků a údajů z provedených měření v laboratoři. Zhodnotím výsledky pomocí dostupných metod, jako je například fluorescence nebo hodnocení kultivovatelnosti. Také provedu hodnocení, do jaké míry ovlivňuje působení pulzního magnetického pole testované bakterie. Všechny získané výsledky budu porovnávat se světovými publikacemi. V literatuře je publikováno pulzní magnetické pole, které působí na biologické tkáně a bakteriální populace. Může mít jak pozitivní tak i negativní vlivy v závislosti na frekvenci a intenzitě pulzního magnetického pole. Některé světové publikace uvádějí zkoumání bakterií pouze v krátkém časovém úseku. Rád bych se proto zaměřil na tuto problematiku a zkoumal vliv pulzního magnetického pole i po delší časové úseky.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 2 Magnetické pole

### 2.1 Maxwellovy rovnice

Maxwellovy rovnice nám vyjadřují základní zákony, které se týkají teorie elektromagnetického pole. Popisují nám jak veličiny elektrického, tak i magnetického pole z čehož vyplývá, že jsou vzájemně propojené a vytváří nám fyzikální oblast, kterou nazýváme elektromagnetické pole. [1]

Maxwellovy rovnice lze napsat jak v integrálním tvaru, tak i v diferenciálním tvaru. Integrální tvar Maxwellových rovnic popisuje elektromagnetické pole v určité prostorové oblasti a diferenciální tvar rovnic se zaměřuje na určitý bod této oblasti.

Jsou celkem čtyři druhy Maxwellových rovnic.

**První** Maxwellova rovnice vychází ze zákona celkového proudu. Rovnice vyjadřuje elektrický proud, následná změna elektrického toku vytváří magnetické pole.

**Druhá** Maxwellova rovnice vychází ze zákona elektromagnetické indukce neboli Faradayova zákona, kde změna magnetického toku následně vytvoří elektrické pole.

**Třetí** Maxwellova rovnice vychází z Gaussova zákona elektrostatiky a popisuje nám, elektrický tok, který proudí přes uzavřenou plochu je zároveň úměrný uzavřenému náboji.

**Čtvrtá** Maxwellova rovnice vychází ze zákona spojitosti indukčního toku a vyjadřuje nám, že celkový magnetický tok, který prochází uzavřenou plochou je nulový.

Tabulka 1: Soustava Maxwellových rovnic [1]

| Maxwellovy rovnice | Diferenciální tvar   | Integrální tvar   |
|--------------------|--|---|
| I.                 | $\text{rot } \mathbf{H} = \mathbf{J}_0 + \frac{\delta \mathbf{D}}{\delta t}$ | $\oint_c \mathbf{H} \cdot d\mathbf{l} = i + \frac{d\Psi}{dt}$ |
| II.                | $\text{rot } \mathbf{E} = - \frac{\delta \mathbf{B}}{\delta t}$              | $\oint_c \mathbf{E} \cdot d\mathbf{l} = - \frac{d\Phi}{dt}$   |
| III.               | $\text{div } \mathbf{D} = \rho_0$  | $\oint_S \mathbf{D} \cdot d\mathbf{S} = Q_0$                  |
| IV.                | $\text{div } \mathbf{B} = 0$   | $\oint_S \mathbf{B} \cdot d\mathbf{S} = 0$                    |

## 2.2 Rozdělení magnetik

Každý elektron v atomu má orbitální dipólový magnetický moment a spinový magnetický dipólový moment, které se vektorově skládají. Výslednice těchto dvou vektorů se vektorově skládá s výslednicemi ostatních elektronů v atomu. A takto získaná výslednice pro jeden atom se skládá s výslednicemi všech ostatních atomů ve vzorku látky. Pokud součet všech těchto magnetických dipólových momentů vytváří makroskopické magnetické pole, je látka magnetická. [2]

Rozlišujeme tři typy magnetik: diamagnetické, paramagnetické a feromagnetické.

### 1. **Diamagnetismus** ( $\mu_r < 1$ )

Diamagnetismem se vyznačují všechny látky, ale většinou jsou tak slabé, že je převyšují látky, které vykazují paramagnetismus nebo feromagnetismus. Látky, které se označují, jako diamagnetické se vyznačují tím, že magnetický dipólový moment jde proti vnějšímu poli, což má za následek zeslabení magnetického pole. Mezi diamagnetické látky řadíme například měď, rtuť, stříbro a vodu.



## 2. **Paramagnetismus** ( $\mu_r > 1$ )

U paramagnetických látek dochází k tomu, že vnější magnetické pole může docílit to, že magnetické momenty budou shodné s vnějším polem a důsledkem toho se v látce vytvoří magnetické pole. Jedná se o látky jako je  $O_2$ , vápník, sodík, hliník.

## 3. **Feromagnetismus** ( $\mu_r \gg 1$ )

Látky takto označované mají oproti všem ostatním mimořádné magnetické vlastnosti.

I zde se magnetické dipólové momenty řadí shodně s vnějším polem a následkem toho se vytvoří pole se silnými magnetickými momenty. Vlivem velkých magnetických vlastností jsou, také často využívány v magnetických obvodech. Jedná se o látky nikl, železo, kobalt.

## 2.3 **Vliv prostředí na elektromagnetické pole**

Elektromagnetické pole se může vyskytovat v prostředí, které je charakterizováno veličinami  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\mu$ . [3]

Prostředí lineární je takové prostředí, kde veličina, která charakterizuje prostředí je konstantní pro všechny hodnoty. Pokud tomu tak není a veličina není konstantní, jedná se o nelineární prostředí.

Homogenní prostředí je takové prostředí, které má v každém bodě sledované oblasti stejné materiálové konstanty. Není-li tomu tak, jedná se o nehomogenní pole.

Izotropní prostředí je takové, které má jak elektrické, tak i magnetické vlastnosti v každém směru stejné. Anizotropní prostředí má v různém směru různé vlastnosti.

Měkké látky – Jedná se o feromagnetickou látku, která po zmagnetizování a následném vyjmutí z vnějšího magnetického pole ihned ztrácí magnetické vlastnosti. Jedná se například o dočasné magnety.

Tvrdá látka – Jedná se o feromagnetickou látku, která si po zmagnetizování stále udržuje magnetické vlastnosti i po vyjmutí z vnějšího magnetického pole. Jedná se o trvalé (permanentní) magnety.

## **2.4 Permeabilita**

Permeabilita patří k základnímu popisu magnetik, může být jak prostředí nebo materiálu. Jedná se o fyzikální veličinu, která určuje míru magnetizace vlivem působení magnetického pole. Když hodnota permeability se zvýší, zvýší se i indukce vlivem magnetického pole shodné intenzity. [4]

$$\mu = \frac{B}{H}, \mu = \mu_r \cdot \mu_0$$

kde:

$\mu$  je absolutní permeabilita

$\mu_r$  je relativní permeabilita

$\mu_0$  je permeabilita vakua

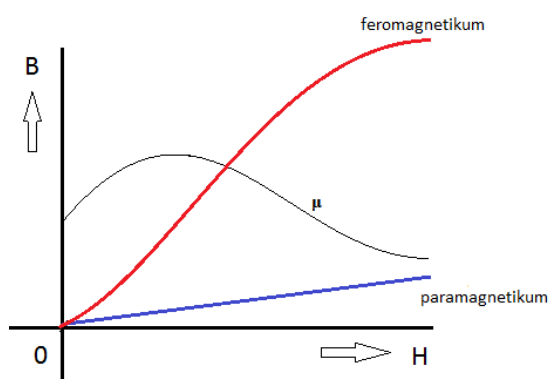
$B$  je magnetická indukce

$H$  je intenzita magnetického pole

## 2.5 Vztah mezi vektory B a H

Vztah mezi vektory B a H není u skutečných magnetik lineární, ale probíhá např. podle křivky prvotní magnetizace. Zde je počáteční strmá část lineární, vektory B, H i M jsou tedy vzájemně úměrné a platí zde vztah [1]

$$\mathbf{B} = \mu \mathbf{H} = \mu_r \mu_0 \mathbf{H}$$

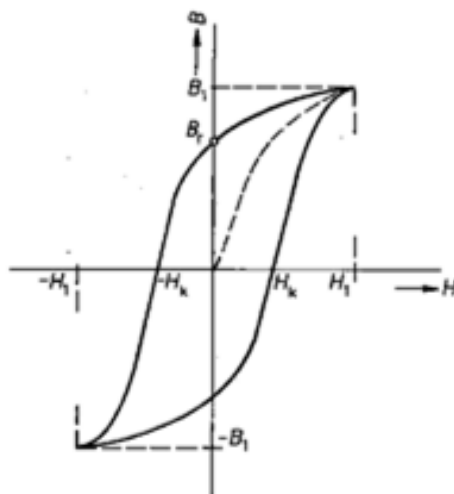


Obrázek 1: Prvotní magnetizace

## 2.6 Hysterezní smyčka

Víme, že závislost mezi magnetickou indukcí ( $B$ ) a intenzitou magnetického pole ( $H$ ) není jednoznačná. Když magnetická indukce dosáhne určité hodnoty a my zmenšíme budící proud a vlivem toho i velikost intenzity magnetického pole. Dojde k tomu, že magnetická indukce ubývá pomaleji, než podle křivky prvotní magnetizace, zde nastává jakási hystereze (zdržení). Stav materiálu nezávisí jen na velikosti  $H$ , ale i na předchozím stavu. Lze tedy říci, že železo má jakou si „paměť“. Zanikne-li intenzita  $H$  při plném buzení, tedy vypnutí budícího proudu až na nulu, zůstává v magnetiku stále jistá **remanentní indukce**  $B_r$ . Magnetikum se tak stává trvalým magnetem. Chceme-li tuto indukci zrušit, musíme budít opačným proudem tak, aby intenzita dosáhla velikosti  $-H_k$ . Ta se nazývá **koercitivitou**. Při dalším průběhu

dostaneme stejnou, ale negativní indukci  $-B_1$ . Obrátíme-li pochod, buzení zvětšujeme na velikost  $+H_1$ . Dostaneme uzavřenou hysterezní smyčku. [1]



Obrázek 2: Hysterezní smyčka [1]

## 2.7 Stacionární magnetické pole

A. M. Ampér prováděl mnoho experimentů, ale mezi ty nejvýznamnější se řadí experiment, kdy zjistil, že se dva rovnoběžné vodiče přitahují. Pokud mezi vodiči protéká proud stejným směrem a naopak se odpuzují, jestliže proud protéká opačným směrem. Vodiče se navzájem ve velké míře neovlivňují, pokud jsou přímé, dostatečně dlouhé a na sebe navzájem kolmé. Na podkladě všech experimentů, které prováděl A. M. Ampér byl zaveden pojem magnetické pole. Magnetické pole působí svými silovými účinky na zmagnetizovaná tělesa, tak i na vodič, kterým protéká proud. Mezi zdroje, které vytváří magnetické pole, můžeme řadit zmagnetizovaná tělesa nebo makroskopické elektrické proudy. [2]

**Stacionární magnetické** pole je takové magnetické pole, které nemění své vlastnosti v čase. Stacionární magnetické pole působí silovými účinky na nepochybní se permanentní magnet, nebo na vodič, kterým prochází stálý proud a nemění svou polohu. [2]

Tyto silové účinky lze popsat pomocí vektorového pole a lze si je představit, že vodič, kterým prochází proud nebo zmagnetizované těleso vytvoří ve svém okolí magnetické pole, které poté působí na ostatní vodiče nebo jiná tělesa. Když budeme bodové náboje považovat za částice, které nesou náboj  $q$ , které se budou pohybovat v okolí vodičů protékaných proudem nebo okolo částic, které jsou zmagnetizované. Tímto dokážeme, že celková síla  $\mathbf{F}$ , která působí na dané částice lze vyjádřit pomocí vztahu. [2]

$$\mathbf{F} = q [\mathbf{E} + \mathbf{v} \times \mathbf{B}]$$

V tomto vztahu  $\mathbf{v}$  vyjadřuje rychlost částice v dané inerciální soustavě,  $\mathbf{E}$  je intenzita elektrického pole a  $\mathbf{B}$  je magnetická indukce. Tento vztah lze nazvat také jako Lorentzův vzorec. Používá se také jako definiční vztah pro intenzitu elektrického pole a magnetickou indukci. [2]

Působí-li na částice pouze magnetická síla a elektrické pole je nulové, lze tento vztah vyjádřit vzorcem.

$$\mathbf{F} = q (\mathbf{v} \times \mathbf{B})$$

Jednotka magnetické indukce v Mezinárodní soustavě se nazývá tesla (T). Ze vztahu

$\mathbf{F} = q (\mathbf{v} \times \mathbf{B})$ , lze snadno odvodit, že Tesla = newton (amper.metr)<sup>-1</sup>. Lze říci, že Tesla působí na náboj jednoho coulombu, který se pohybuje rychlostí jednoho metru za sekundu, silou jednoho newtonu. Pro každé vektorové pole, lze také pro vektor magnetické indukce zavést pojem tok. Mluvíme pak o magnetickém toku  $\Phi$ . Pro libovolnou orientovanou plochu  $S$  platí. [2]

$$\Phi = \int_S \mathbf{B} \cdot d\mathbf{S}$$

Jednotkou magnetického toku je jeden weber (Wb). Podle definiční relace jednotky magnetické indukce platí. Weber = joule . sekunda . coulomb<sup>-1</sup> [2]

## 2.8 Pulzní obdélníkové pole

Mezi nejdůležitější biotropní parametry pulzu patří jeho tvar, na něm totiž závisí především biologická odezva i vlastní terapeutický účinek. Jako nejúčinnější tvar pulzu z pohledu biologické aktivity organismu se považuje obdélníkový průběh pulzu, který je buzen napětíovým pulzem a mění skokově hodnotu z maximální na nulovou. [5]

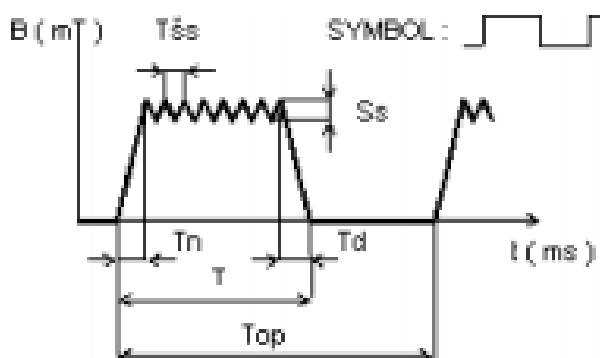
**Nejčastěji se v terapiích používají dva druhy pulzů.**

Mezi **první** patří tzv. jednotlivý puls (single pulse), který působí přímo na určitou buňku. Zde tvar působícího pulzu podporuje růst cév a kostí. Při terapii tímto pulzem se používají bifázické obdélníkové pulzy nebo obdélníkové impulzy s přechodem do záporné hodnoty. [5]

**Druhý** pulz se nazývá tzv. salva impulzů (puls bursts) tyto pulzy velice málo ovlivňují růst cév, ale je zde značná resorbce iontu  $\text{Ca}^+$  z tkání.

Tvar impulzu magnetického pole vycházejícího z aplikátoru se přesně shoduje s časovým průběhem budícího proudu vstupujícího do aplikátoru. Tvar budícího proudu může být obecně jiný. Toto je dáno skutečností, že proud tekoucí cívkou určuje energii a je tedy stavovou veličinou. Stavové veličiny nemohou svůj časový průběh měnit skokově. Jelikož napětí stavovou veličinou není, může se jeho časový průběh měnit skokově a proud se pouze snaží tyto skokové změny plynule vyrovnávat. [5]

Průběh obdélníkového pulzu: zde se sleduje nejen frekvence, ale i ostatní parametry.



Obrázek 3: Biotropní parametry obdélníkového pulzu [5]

$T_N$  – doba trvání náběžné hrany

$T_D$  – doba trvání sestupné hrany

$T$  – doba trvání impulzu

$T_{\text{šs}}$  – doba opakování šumové složky

$T_{\text{OP}}$  – opakovací doba impulzů

$\text{šs}$  – indukce šumové složky

### **3 Bakterie**

Bakterie (z řec. Bakterion = tyčinka) – jsou všudypřítomné organismy (mikroorganismy), rozšířené po celém povrchu Země od oblastí s trvale nízkými teplotami, jako je Arktida, až po oblasti s teplotami vyššími než 100 °C (podmořské vulkanické a termální prameny). Bakteriální organismy patří mezi nejstarší formy života na Zemi. Jejich vznik se datuje přibližně před cca 3 miliardami let. Některé bakterie, které označujeme jako patogenní, jsou původci onemocnění rostlin, živočichů a člověka. Bakterie také mohou existovat ve vztahu symbiózy mezi organismy, kdy hostitelskému organismu neškodí. Například rody *Lectobacillus*, *Escherichia coli* a další bakterie jsou součástí mikroflóry trávicího traktu člověka. [6]

#### **3.1 Escherichia coli**

Jedná se o fakultativně anaerobní, nesporetvorné bakterie, které patří do rodu *Escherichia* a čeledi *Enterobacteriaceae*. Mají tyčinkový tvar a pohybují se díky přítomnosti bičíků. Na povrchu bakterie se nachází dva typy fimbrií. První z nich slouží k přichycení na epitel hostitele a dokáže ho osídlit, tato fimbrie je složena z kyselého hydrofobního proteinu tzv. fimbrinu. Dalším typem je tzv. sex pili, která je důležitá hlavně při konjugaci. Vyskytují se buď to jednotlivě, ve dvojcích popřípadě tvoří i krátké řetězce. Bakterie *Escherichia coli* dosahuje velikosti v průměru 1 - 1,5 x 2 - 6 µm. Jednou z vlastností této bakterie je mikrobiologická analýza, která slouží k posuzování kvality potravin a potravinových surovin. Mezi další významnou vlastnost patří rezistence k antimikrobiálním látkám. [7]



### **3.2 Epidemiologický význam *Escherichia coli***

Většina kmenů *Escherichia coli* je nepatogenní a tvoří běžnou součást střevní mikroflóry člověka a teplokrevných zvířat. Běžně se využívá jako modelový organismus pro studium fyziologie bakterií, jejich metabolismu, genetické regulace či stavby a funkce buněčné stěny. [7]

*E. coli* může být i člověku prospěšná tím, že produkují kolociny jež mají za následek antibiotický účinek, dále se podílejí na vzniku vitamínů K. Vyjma enterohemorhagické *E. coli*, která je také označovaná jako shiga-like toxigenní *E. coli* či verotoxigenní *E. coli*, ty způsobují krvavé průjmy a hemolyticko-uremický syndrom.

### **3.3 Vliv vnějších a vnitřních faktorů a technologických procesů**

*E. coli* roste v teplotním rozmezí 7 – 45 °C , optimum je 30 – 37 °C. Je citlivá vůči zahřátí na vysokou teplotu, pasterační teploty ji devitalizují. Roste při pH 4 – 10, s optimem v rozmezí 6 – 7. Minimální aktivita vody pro růst a množení je 0,95. Dobře roste při obsahu NaCl do 2,5 %, ale je schopna za určitých podmínek tolerovat i koncentrace vyšší (6 – 8 %). *E. coli* dobře snáší mražení. Kmeny *Escherichie coli* O157:H7 špatně rostou při 44 – 45 °C. Jsou acidotolerantní a dobře přežívají i v kyselých potravinách (pH 3,6 – 4,0 ), a to především při snížené teplotě. [7]

### **3.4 Popis *Escherichie coli***

Vnější membrána *E. coli* se skládá z dvojvrstvy lipidů a je pokryta lipopolysacharidem, kde se nachází množství membránových proteinů, mezi které patří

poriny ty mají funkci vstupního a výstupního kanálu pro buněčné metabolity a slouží i pro příjem vitamínu z okolí. Prostor, který je tvořen mezi vnější membránou a buněčnou stěnou se nazývá periplazmatický. Zde se nacházejí proteiny vázající aminokyseliny či cukry a enzymy, které degradují antibiotika. Buněčná stěna je utvořena ze slabé vrstvy peptidoglykanu, ten je zodpovědný za rigidní tvar buňky. Cytoplasma se skládá výhradně z proteinů a to především lipopolysacharidy a fosfolipidy. Cytoplasma u bakteriálních buněk má viskózní vodný roztok, který obsahuje rozpuštěné anorganické a organické látky. Díky vysokému obsahu ribozomů probíhá proteosyntéza a bakteriální dělení buněk rychle. *Escherichia coli* je bakterií tzv. fakultativně anaerobní, což znamená, že ke svému metabolismu nepotřebuje kyslík a využívá tak kvasný metabolismus neboli fermentace. [8]

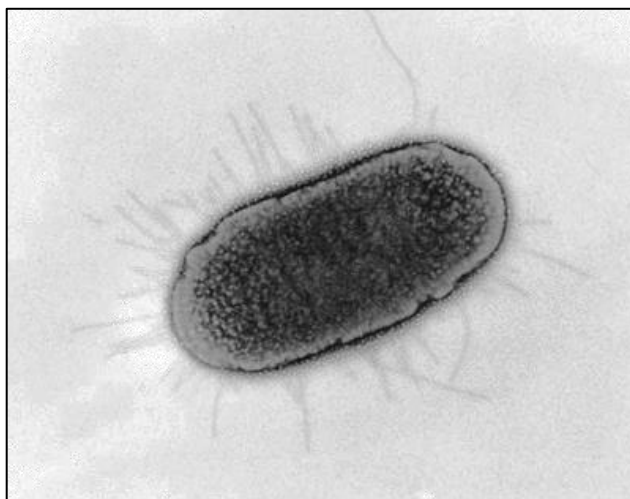
Fermentace je fylogeneticky nejstarší a prapůvodní způsob získávání energie. První živá hmota i první primitivní buňky fermentovaly organické látky abiogenetického původu přítomné v roztoku kolem nich. To trvalo velmi dlouho – od vzniku života po dobu asi 2 miliard let. Pak, před asi 1,5 miliardou let, se objevila fotosyntéza, zejména sinicového typu, provázená produkcí kyslíku do ovzduší. Tím byly vytvořeny předpoklady k tomu, aby se dosud fermentující chemotrofní bakterie mohly naučit tento kyslík použít jako extracelulární oxidans zdroje energie dosud jen fermentovaného, aby vznikla aerobní respirace. Když se tak stalo, mělo to velice závažné důsledky pro další kvantitativní i kvalitativní rozvoj života, neboť oxidace např. molu glukózy na  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  kyslíkem dává potenciálně **24krát víc volné energie** než oxidace téhož molu glukózy na laktát fermentací. [9]

Jako zdroj energie využívá aminokyseliny, ale především využívá glukosu, která zajišťuje bakterii rychlý růst. Tu zpracovává za vzniku laktátu popřípadě ethanolu.

*Escherichia coli* je gram-negativní bakterie, je příčinou alimentárních onemocnění a jako primární hostitel změny DNA. Její rozvíjející se sérotypy mohou způsobit vážné gastrointestinální onemocnění až smrt. Jedná se o sérotypy O157:H7 a O104:H4 .

Díky dlouhé historii laboratorní kultivace a snadné manipulace je *E. coli* velmi významná v moderním bioinženýrství a průmyslové mikrobiologii. Rekombinantní *E. coli* vzniklá přenosem genů na plasmidech je velmi všestranným hostitelem užívaným při produkci heterologních proteinů průmyslovými fermentačními procesy ve velkém

měřítku. Jednou z prvních použitelných aplikací technologie rekombinantní DNA byla manipulace *E. coli* na producenta lidského insulinu. Modifikované kmeny *E. coli* slouží k přípravě vakcín, léčebných biopreparátů a imobilizovaných enzymů. Určitým omezením těchto aplikací je skutečnost, že *E. coli* nemůže být použita k přípravě komplexních proteinů obsahujících disulfidické můstky a nepárové thiohy nebo k přípravě proteinů vyžadujících pro svou aktivitu posttranslační modifikace [10]



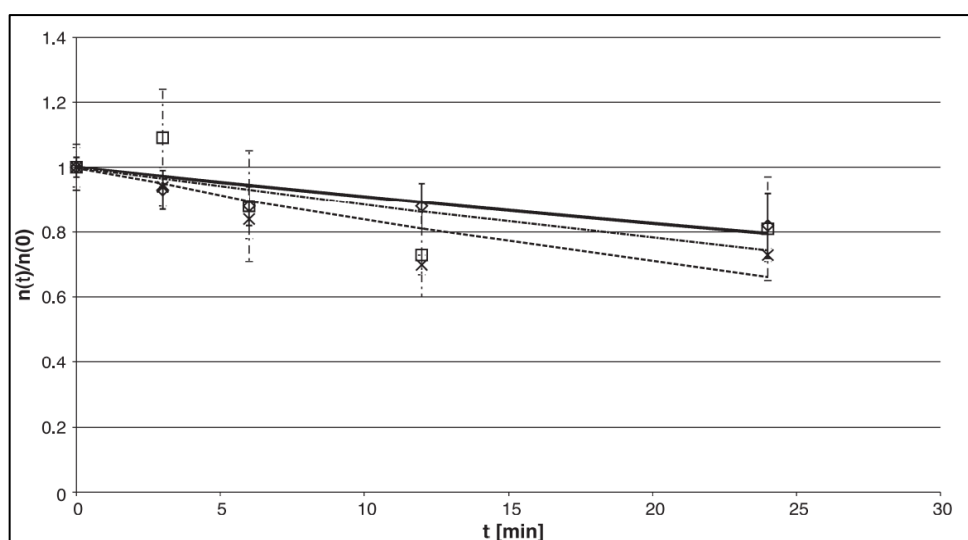
Obrázek 4: Escherichia coli pod mikroskopem [11]

### **3.5 Srovnání nízkofrekvenčních magnetických účinku na bakterii *Escherichia coli***

V této kapitole bych se zaměřil na studii, kterou popsali Lukáš Fojt, Luděk Strašák, Vladimír Vetterl a Jan Šmarda. [12] V tomto experimentu se sledoval účinek magnetického pole na třech bakteriálních kmenech – *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* a *Staphylococcus aureus*. Výše zmíněné bakterie nebyly vybrány zcela náhodně, ale protože jsou snadno dostupné a mohou být chovány při teplotě 37 °C. *Staphylococcus aureus* je gram-pozitivní bakterie zbylé dvě jsou gram-negativní. K experimentu byla použita válcová cívka, která generuje magnetické pole. Maximální efektivní proud byl 1,9 A a frekvence 50 Hz. Teplota uvnitř cívky byla udržována v rozmezí od 20 – 25 °C. Použité vzorky bakterií byly umístěny v nevodivé části

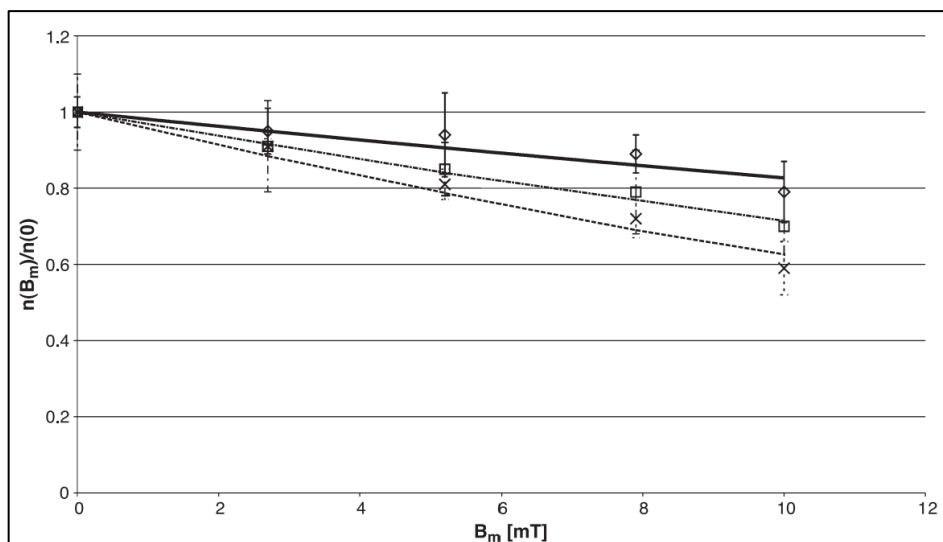
v centru cívky. Všechny bakterie byly v Petriho miskách. Konkrétně byly použity bakterie *E. coli*, *L. adedecarboxylata* (kmen 2177) a *S. aureus* (FA 812). Pro pěstování bakterií bylo použito 8 g Trypton, 5 g kvasnicový extrakt, 5 - g NaCl l - vody a základní živný agar 40 g /l. Experiment se posuzoval z hlediska expozičního času a velikosti magnetické indukce, kdy příslušné bakteriální kultury byly vystaveny magnetickému poli na agarových destičkách ve fázi jejich logaritmického růstu (4,5 h od nasazení). [12]

Bakteriální buňky na agarových destičkách byly vystaveny magnetickému poli o frekvenci  $f = 50 \text{ Hz}$  a magnetické indukci  $B = 10 \text{ mT}$ . Výsledkem bylo, že počet CFU (jednotek tvořící kolonie) klesá s časem u všech zkoumaných vzorků. Výsledné snížení u *E. coli* bylo po 25 min o cca 30 % nižší a u *S. aureus* o cca 20 % nižší. Nejvíce citlivé na magnetické pole je *E. coli* a naopak nejméně *S. aureus*.(Obr. 5) [12]



Obrázek 5: Závislost relativního počtu CFU na délce trvání expozice ( $B_m = 10 \text{ mT}$ ) --- *E. coli*,-·-·- *L. adedecarboxylata*,— *S. aureus* [12]

Zkoumané bakterie byly vystaveny magnetickému poli na 12 minut. Amplituda indukce magnetického pole se pohybovala od 2,7 až do 10 mT. Výsledky ukázaly exponenciální pokles CFU, největší pokles byl zaznamenán opět u *E. coli*. (Obr. 6) [12]



Obrázek 6: Závislost relativního počtu CFU na velikosti magnetické indukce ( $t = 12$  min) --- *E. coli*, -.-.- *L. adedecarboxylata*, — *S. aureus* [12]

Magnetické pole způsobuje snížení CFU ve všech zkoumaných vzorcích. Již dříve bylo prokázáno, že magnetické pole zabíjí bakterie *E. coli* a díky tomuto experimentu se stejné výsledky prokázaly i u bakterií *L. adedecarboxylata* a *S. aureus*. Z (Obrázku 6) lze vidět, že všechny bakterie reagují na magnetické pole stejně, pouze se liší síla jejich reakce v závislosti na kmenu bakterie. [12]

## **4 Účinky elektromagnetického pole na bakterie**

V dnešní době se elektromagnetické pole uplatňuje zejména v medicíně, kde se používá jako doplňková terapie. Mezi doplňkové terapie patří aplikace elektromagnetických pulsů ke snižování bolesti při zlomeninách nebo onemocnění pohybového aparátu. Uplatňuje se také při léčbě osteoporózy nebo hojení ran. Právě hojení ran je složitý proces, kterého se účastní mnoho faktorů. Jedním z negativních faktorů je napadení rány bakteriemi neboli infekce, která proces hojení může prodloužit. Proto se řada výzkumu soustředila na zkoumání vlivu elektromagnetického pole na různé bakterie. [13]

Zkoumání vlivu účinku elektromagnetického pole na bakteriálních kmenech *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) a *Escherichia coli* (ATCC 25922). [13] Frekvence pole byla 50 Hz a intenzita se pohybovala od 0,5, 1 až 2 mT po dobu 20 min, 1, 3, 6 a 24 hod. Kmeny bakterií byly uloženy v sójovém vývaru při teplotě 37 °C. Poté se vzorky rozdělily na pokusné a kontrolní skupiny. Testovací vzorky bakterií byly pak vystaveny elektromagnetickému poli, kontrolní skupiny zůstávají neexponované. Fáze toho to pokusu byla prováděná při pokojové teplotě 25 °C . Při experimentu byly použity takové prostředky a nástroje, aby nedošlo k jakémukoliv rušení. Po vystavení vzorku po určitý čas elektromagnetickému poli byly tyto vzorky společně s testovacími kultivovány na TSB (Trypton Sójový Bujón) a poté se stanovil počet jednotlivých bakterií. Samozřejmě byl prokázán rozdíl, na vzorky na které působilo a nepůsobilo elektromagnetické pole. Expozice se vyhodnocovala pomocí t - testu. [13]

Účinky elektromagnetického pole závisí na typu mikroorganismu, intenzitě a trvání expozice, proto na základě těchto údajů bylo měření provedeno na bakteriálních kmenech *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* a to s pevnou frekvencí 50 Hz a při intenzitě v rozmezí 0,5 – 2 mT. Z výsledku bylo zjištěno, že vystavení *Staphylococcus aureus* po dobu 20 minut při intenzitě 0,5 mT a 2 mT došlo k výraznému úbytku bakterií a to až o cca 31 % při 2 mT. Přičemž při vystavení bakterie po stejný čas, ale s intenzitou 1 mT došlo k výraznému zvýšení počtu bakterií a to o cca 39 %. K nejvyššímu snížení u bakterií *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* došlo při

intenzitě 2 mT po dobu působení 20 min. A to přesně u *E. coli* o 35 % a *S. aureus* o 31 %. [13]

Cellini ve své práci [14] poukázal na to, že elektromagnetické pole o frekvenci 50 Hz a intenzity 0,1, 0,5 a 1 mT při působení 20 až 120 minut má vliv na morfologii a antibiotickou náchylnost *E. coli*, které vedou k polymorfismu a odolnosti vůči cefalosporinům mezi, které patří ceftazidim. Cellini také tvrdí, že elektromagnetické pole působí jako stresový faktor, který má za následek růst bakterií, jelikož ke zvýšení počtu bakterií došlo, až po inkubaci 24 h. Dospělo se k závěru, že tato změna nebyla vyvolaná přímým účinkem elektromagnetického pole, ale vzhledem k aktivaci mechanismu kompatibility po vystavení elektromagnetickému poli. [14]

Strašák a kolektiv ve své studii [15] tvrdí, že působení EMP o frekvenci 50 Hz a intenzity 10 mT po dobu 20 minut na různé typy bakterií jsou ovlivňovány různě. U gramnegativní bakterie *Escherichia coli* a *Leclercia adecarboxylata* po srovnání s kontrolními vzorky se toto působení projevuje tím, že u bakterií dochází ke snížení KTJ v rozmezí 30 – 40 %. Pro grampozitivní bakterie *Paracoccus denitrificans* a *Staphylococcus aureus* se jedná o 20 % snížení KTJ ve vzorku oproti kontrolnímu. [15]

Elektromagnetické pole sloužící jako doplňková metoda v medicíně a to zejména při hojení ran a kontrolu bakteriálních biofilmů a také pokud jde o různé účinky elektromagnetických polí s použitím různých časů expozice a intenzity, které mají vliv na rychlost a životaschopnost bakterií. Zde je důležitý výběr správného času expozice a intenzity záření jelikož tyto faktory mohou ovlivňovat proces hojení. [13]

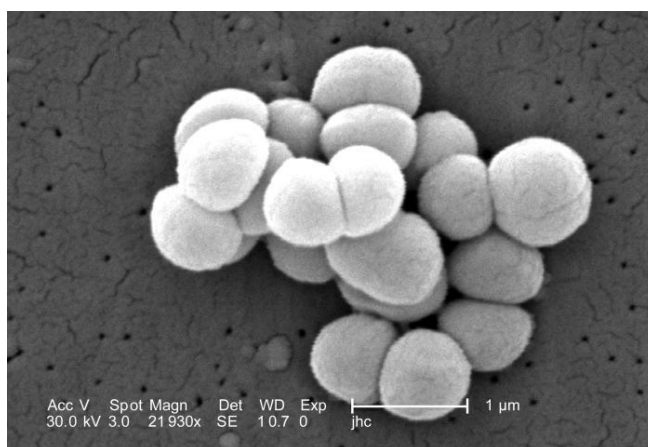
Z výše uvedených údajů lze říci, že vystavení bakterií frekvenci 50 Hz a intenzitě od 2 mT do 10 mT po dobu 20 min dojde ke snížení počtů bakterií a to k největšímu u gramnegativních bakterií při intenzitě 10 mT. Velikost snížení KTJ závisí na druhu zkoumané bakterie. Naopak vystavení bakterií nízkým intenzitám do 1 mT, za působení stejného času má za následek zvýšení počtu KTJ.

## 5 Micrococcus Luteus

Mikrokoky jsou na základě morfologických a růstových vlastností zařazeny do stejné čeledě jako stafylokoky. Analýzy genomu však ukázaly, že jde o rody velmi odlišné a vývojově vzdálené. Fenotypicky se mikrokoky nejvýrazněji liší od stafylokoků svým striktně respiračním metabolismem. Zatímco stafylokoky jsou fakultativně anaerobní, mikrokoky jsou striktně aerobní. [9]

Micrococcus patří do rodu grampozitivních bakterií a je z kmene Actinobacteria, jejich přirozené prostředí výskytu je kůže savců. Také mají významnou roli v rozkladu organických látek jako je např. celulóza. Proto se vyskytuje v přírodě a to konkrétně v půdě (tvorba humusu), vodě a prachu. Vyskytují se i na pokožce lidí, mléčných produktech a masu. Buňky dosahují rozměru od 0,5 až po 3  $\mu\text{m}$ . Mají kokovitý tvar a jsou uspořádané ve čtveřicích. Micrococcus je bakterií, která přežije i v nepříznivých podmínkách po delší dobu. Za běžných podmínek jsou mikrokoky nepatogenní bakterie, ale u osob s oslabenou imunitou mohou vyvolat závažné infekce. Micrococcus může růst i v prostředí s trochou vody nebo i při vysoké koncentraci soli.

Optimální kultivační teplota je mezi 25 – 37 °C. [16]



Obrázek 7: Micrococcus luteus pod mikroskopem [17]



## **6 Dělení bakterií na Grampozitivní a Gramnegativní bakterie**

Gramovo barvení se používá při rozlišení rodů rozdílných bakterií. To je dáno stavbou buněčné stěny jednotlivých bakterií. Bakterie, které označujeme grampozitivní, mají podle Gramovy metody barvení pod mikroskopem modrofialovou barvu. To je zapříčiněno především velkým obsahem peptidoglykanu s teichoovými kyselinami, který tvoří buněčnou stěnu a následně chybějící vnější membránou, která obsahuje fosfolipidy, strukturní i enzymové proteiny a lipoproteiny. U gram-negativních bakterií je to naopak mají tenkou buněčnou stěnu z peptidoglykanu, která postrádá teichoové kyseliny a mají vnější membránu z fosfolipidů, proteinů a polysacharidů.

Buněčná stěna gram-pozitivních bakterií je tlustší a skládá se převážně z peptidoglykanů. Buněčná stěna je barvitelná krystalickou violetí, kterou z ní nelze vymýt alkoholem. Gramovým barvením je tedy gram-pozitivní bakterie zbarvena modrofialově. Mnoho antibiotik je svým účinkem zaměřeno na narušení struktury buněčné stěny (např. penicilin) a gram-pozitivní bakterie patří k citlivým bakteriím. [6]

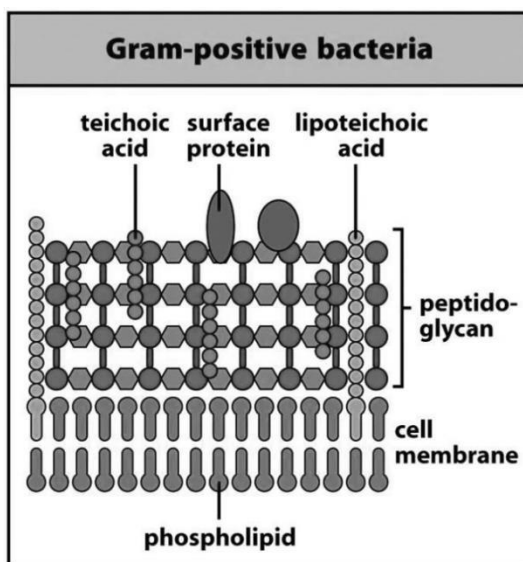
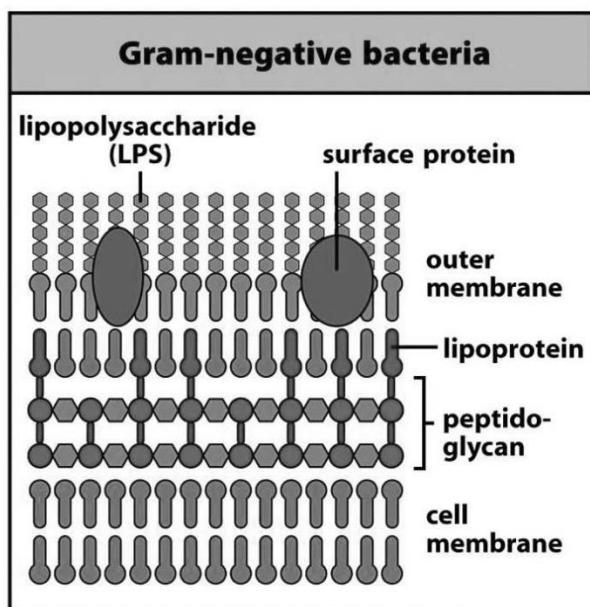


Figure 2-14 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Obrázek 8: : Struktura gram-pozitivní bakterie [18]

Buněčná stěna gram-negativních bakterií je odolnější vůči antibiotikům a složkám imunitního systému napadeného organismu. Je podstatně tenčí,

peptidoglykanová vrstva je zredukována a převahu mají liposacharidy. Svrchu je překryta vnější membránou. Buněčná membrána je barvitelná krystalickou violetí, ale alkohol jí z ní vymývá. Gramovým barvením se tedy gram-negativní bakterie zbarví do růžové barvy, dodatečným zabarvením safraninovým roztokem. [6]



Obrázek 9: Struktura gram-negativní bakterie [18]

## **7 Účinky vysokého a nízkého frekvenčního pulzního elektromagnetického pole na růst *E. coli***

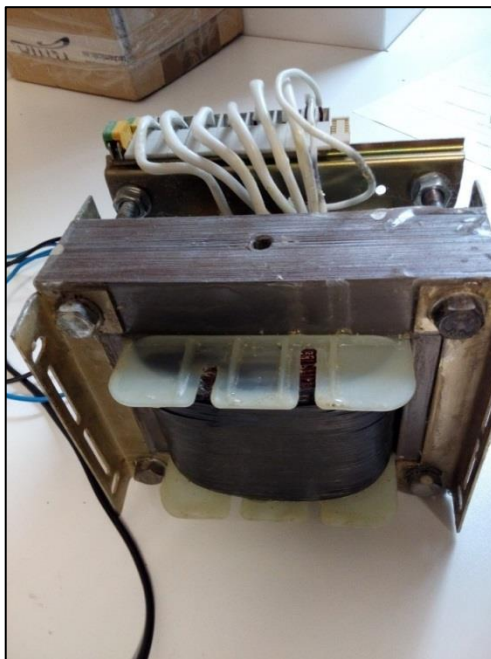
Ve studii [20] se sleduje růst bakterií za použití zařízení, které produkuje pulzní elektromagnetické pole s frekvenčním rozsahem od 10 Hz – 110 kHz (0,07 mT). Zařízení pro generování magnetického pole je napájeno stejnosměrným proudem (DC), 6 V, 3 W. Studie byla prováděna na *E. coli* (ATCC1533). Kolonie bakterií byly přefiltrovány do kultivačního média a inkubovány po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C. Poté byly v kultivačním médiu vystaveny záření po dobu 6 hodin a pak kultivovány v BHI (Brain – heart infusion medium) jedná se o médium pro izolaci a kultivaci většiny anaerobních bakterií a jiných mikroorganismů. Základní nutriční vlastnosti jsou mozek infuze srdce od pevných látek, jakož i masové peptony, s přidavkem kvasničného extraktu. Médium je doplněno vitamínem K1, který slouží jako růstový faktor. Skladuje se za podmínek bez kyslíku. [19] Po 2 dnech inkubace se počítaly kolonie. Získané kolonie byly testovány standardní metodou na přítomnost mutací v bakterii. V této studii bylo testováno reakce 50 vzorků při frekvenci 110 kHz a 10 Hz a následně byly testované vzorky porovnány s kontrolními skupinami. Výsledkem bylo, že nebyl potvrzen žádný vliv magnetického pole na biochemické vlastnosti bakterie *E. coli*. Tato studie dokázala, že pulzní elektromagnetické pole s frekvencí 10 Hz o intenzitě 0,07 mT, které působí na vzorek po dobu 6 hodin, dokáže snížit počet bakterií o cca 8 %. Naopak při působení elektromagnetického pulzního pole o frekvenci 1 – 5 Hz o intenzitě 1 T nemá žádný vliv na počet bakterií *E. coli*. Při ozáření kolonie frekvencí 10 Hz po dobu 6 hodin došlo k tomu, že růst bakterií se snížil o 475 %, avšak při působení 110 kHz po stejnou dobu se růst bakterií zvýšil o 246 %. Výsledkem celého experimentu je, že při působení vysoké frekvence dochází ke zvýšení růstu bakterií a naopak při působení nízké frekvence dochází ke snížení růstu. [20]

# PRAKTICKÁ ČÁST

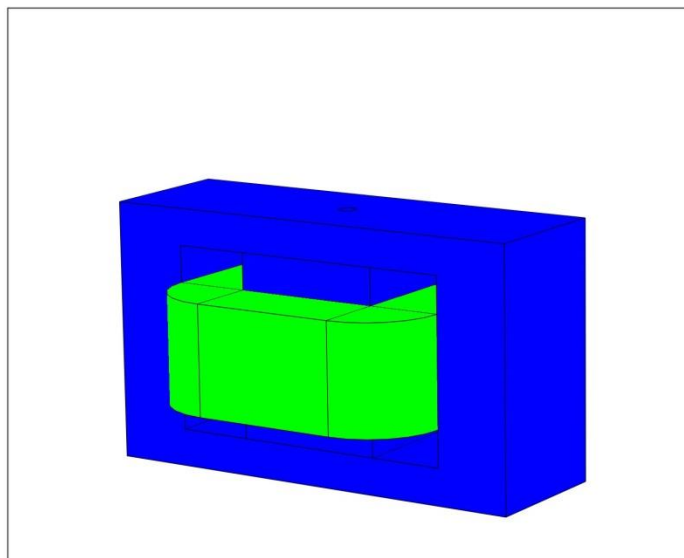
## 8 MATERIÁLY A METODY

### 8.1 Generátor pulzního magnetického pole

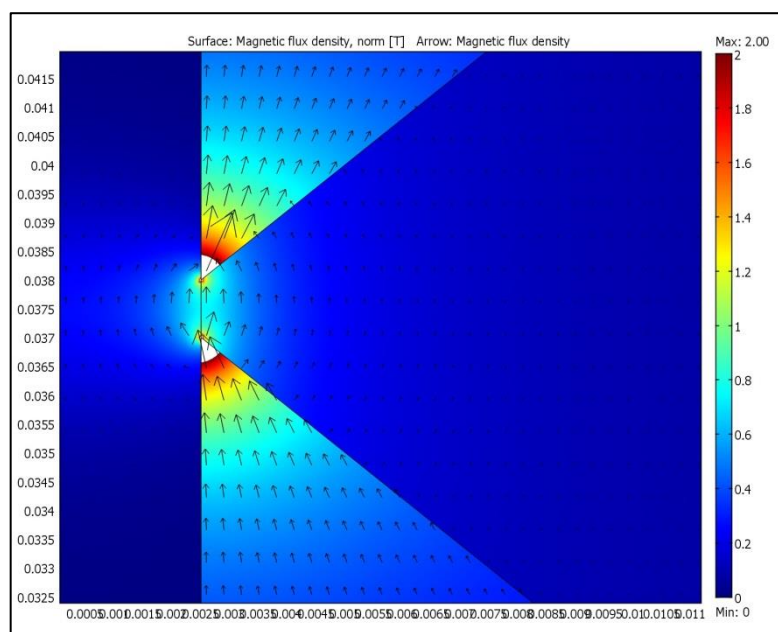
Zařízení, které vytváří magnetické pole, bylo sestrojeno Ing. Martinem Truhlářem, Ph.D. (TUL, FM, MTI). Tento generátor pulzního magnetického pole se skládá z ocelové konstrukce, do které je vyvrtaná díra směřující až do středu mezi uloženou cívku. Nejsilnější magnetické pole se nachází pouze v jejím středu, který je velký cca 2 mm. Zařízení může dosáhnout frekvence v rozmezí 0 – 537 Hz a teoreticky by mohlo dosáhnout až 1300 Hz. Magnetickou indukci lze nastavit zhruba v rozmezí 0 – 600 mT. [21] Přesné zjištění intenzity se provádí pomocí gaussmetru hirst gm 08, který se vloží do středu mezery.



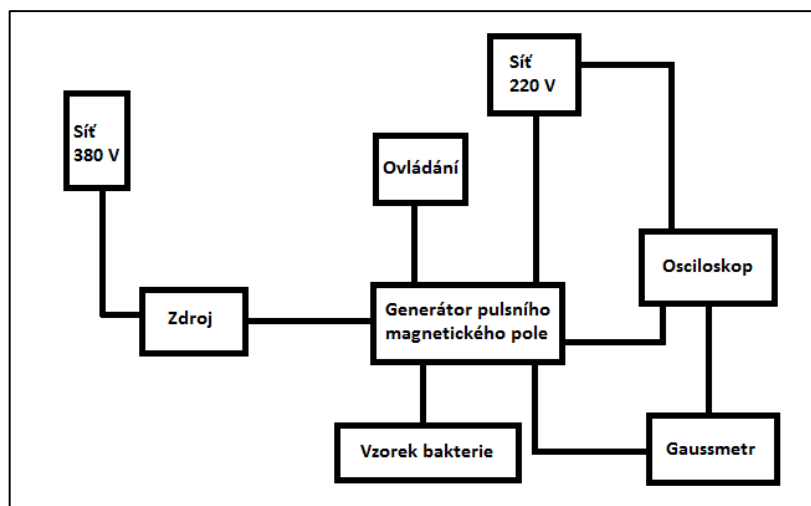
Obrázek 10: Generátor pulzního pole



Obrázek 11: 3D obraz generátoru pulzního pole [21]



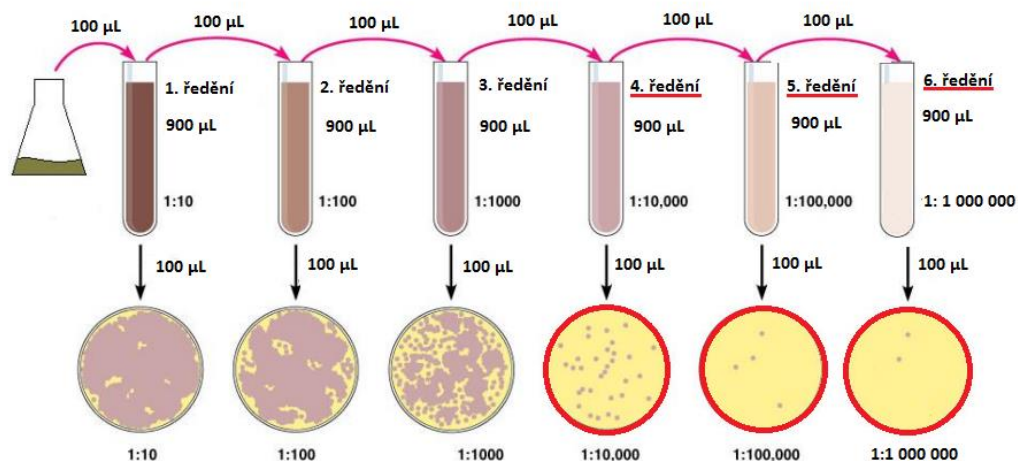
Obrázek 12: Simulace rozložení magnetického pole ve vzduchové mezeře [21]



Obrázek 13: Blokové schéma experimentu

## 8.2 Ředění roztoku bakterie *E. Coli*

Postup při ředění vzorku. Bakterii *E. coli* jsme pomocí bakteriologické kličky odebrali z ploten a dali do baňky se sójou a důkladně promíchali. Bakteriologická klička je ocelový nebo jiný vhodný drátek s očkem. Před použitím se sterilizuje nad plamenem a nechá se zchladnout. Aby výsledná absorbance zásobního roztoku byla v rozmezí 0,2 až 0,3, tak jsme v roztoku rozptýlili 3 až 4 očka bakterie a poté jsme z této baňky odebrali 100  $\mu\text{L}$  vzorku určenou pipetou. Vzorek jsme dali do prázdné zkumavky a přidali 900  $\mu\text{L}$  fyziologického roztoku a promíchali na zařízení Heidolph Reax control, tímto jsme provedli první ředění dané bakterie. U vzorku je důležité důkladné promíchání, aby odebraný vzorek obsahoval průměrný počet bakterií. Při druhém ředění jsme provedli ředění roztoku odebráním již ze zředěného roztoku 100  $\mu\text{L}$  vzorku a dali do nové zkumavky a přidali 900  $\mu\text{L}$  fyziologického roztoku a promíchali. Dále jsme postupovali stejným způsobem až do požadovaného počtu zředění. V našem případě se jednalo o šest ředění. Na výsev jsme použili poslední tři zředění (viz. Obrázek 14).



Obrázek 14: Jednotlivé fáze postupu námi ředěného vzorku

### 8.3 Výsev bakterií

Po určitém počtu zředění příslušné bakterie jsme provedli výsev. V našem případě se jednalo o výsev z posledních třech ředění. Postup byl následující, ze čtvrtého ředění jsme odebrali pipetou 100 µL vzorku a dali do příslušné prázdné Petriho misky, kterou jsme si předem označili dobou měření, druhým měření a číslem vloženého ředění. Vzniklo nám tedy u každé metody s příslušným časem měření tři Petriho misky se vzorkem. Poté jsme Petriho misku se vzorkem zalili rozehřátým agarovým živným médiem o teplotě cca 40 – 50°C. Ihned po zalití rozehřátým agarem jsme misky mírně promíchali, aby se agar rozprostřel po celé ploše Petriho misky a kolonie bakterií mohly růst po celém objemu živného média. Všechny misky jsme vložili do igelitového pytlíku a dali na 24 hodin do termoboxu, kde vlivem teploty došlo k růstu bakterií.

### 8.4 Vyhodnocování počtu bakterií

Po kultivaci v termoboxu vyrůstají mikroorganismy na živných médiích ve formě kolonií. Jedná se o útvary, které vzniknou pomnožením jedné buňky nebo shluku dvou či více od sebe neoddělitelných buněk. Jejich tvar a velikost je různorodá.

Při vyhodnocování počtu bakterií se zpravidla vybírají jen Petriho misky z těch ředění, kde se množství pomnožených bakterií dá snadno spočítat, tedy kde se netvoří slité nebo nepřehledné kolonie. Za nejvhodnější misky, které prošly ředěním, se považují takové, kde je počet kolonií v rozmezí 30 až 300. Při vyjádření počtu mikroorganismu ve zkoumaných vzorcích se používá výraz CFU/g nebo CFU/ml, který značí „počet jednotek tvořících kolonie“. Český ekvivalent CFU je KTJ (kolonie tvořící jednotky). KTJ jsme vypočítali pomocí vzorce:

$$KTJ = \frac{\text{počet kolonií}}{\text{ředění}} \cdot \frac{1}{\text{objem napipetovaného vzorku v ml}} \quad [22]$$

## 8.5 Absorbance

Absorbance jsme prováděli na přístroji Hach Lange DR 6000. S nastavenou vlnovou délkou 600 nm.

Absorbance je veličina, která se používá jak ve fotometrii, tak i ve spektrometrii. Udává, jak velké množství světla je pohlceno měřeným vzorkem. Absorbance je bezrozměrná veličina. [23]

Absorbanci lze definovat na základě transmitance: [23]

$$A = -\log T \quad [23]$$

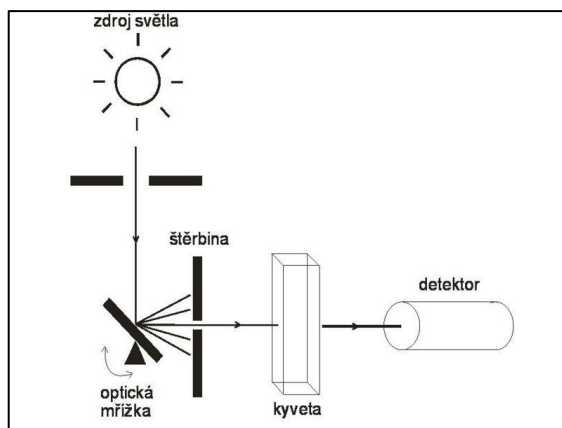
Kde **A** je absorbance a **T** je transmitance téhož vzorku za stejných podmínek.

Z této definice transmitance vyplývají dva vztahy pro absorbanci. [23]

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \log \frac{I_0}{I} \quad [23]$$

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad [23]$$





Obrázek 15: Princip spektrofotometru [23]

Z rovnic je jasné patrné, že vzorek, který nepohlíží žádné světlo, bude mít absorbanci nula. Prosvětlený vzorek, který bude mít absorbanci 1, znamená, že vzorkem prošla právě jedna desetina světla a následně při absorbanci 2 prošla právě jedna setina vstupujícího světla. Záporná absorbance znamená, že vzorkem prošlo více světla, než slepým vzorkem. Záporná absorbance vzniká v důsledku hrubé chyby nebo nesprávném uspořádání experimentu. [23]

Když koncentrace látky roste, tak dochází k tomu, že klesá přesnost měření. Proto je vhodné naředit zkoumané vzorky tak, aby absorbance byla v rozmezí od 0 do 1. V této oblasti je absorbance lineární. Nepřesnost v měření může vzniknout v důsledku nižší citlivosti senzorů při málo zředěném vzorku, popřípadě při poklesu světla. [24]

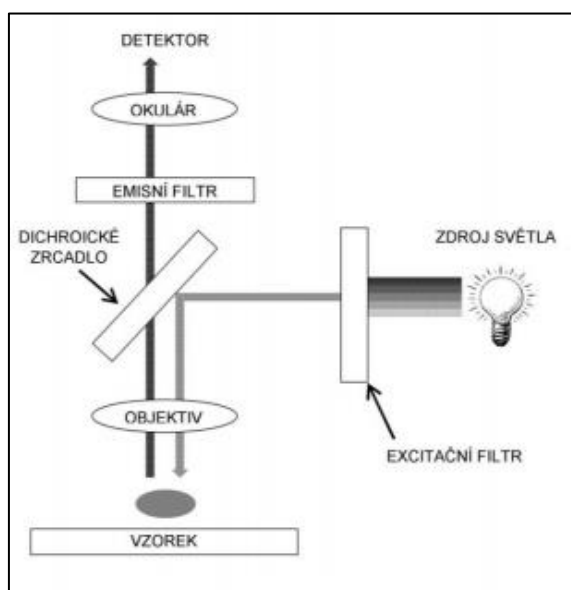
V našem případě jsme absorbanci prováděli tak, že jsme zprvu do kyvety odebrali sóju a správně vložili do spektrofotometru a nastavili vlnovou délku 600 nm a poté vynulovali. Následně jsme do kyvety odebrali vzorek ze zásobní baňky s bakterií a provedli jsme to samé jen s tím rozdílem, že jsme místo vynulování dali hodnotu načíst, poté se nám zobrazila hodnota absorbance daného roztoku, kterou jsme si poznamenali.

## 8.6 Fluorescence

Při fluorescenci jsme použili zařízení: mikroskop Zeiss Axio Imager.M2, napojenou kamerou AxioCam ICc 1 a vyhodnocovací software AxioVision SE64.

Významnou součástí fluorescenční mikroskopie je excitace fluorochromu po expozici světlem o krátké vlnové délce a poté následná emise světla o delší vlnové délce z fluorochromu. Během vzniku fluorescence je část energie ztracena, díky tomu se emisní spektrum dostává do vyšších vlnových délek. Patříčnými filtry, které jsou umístěny v mikroskopu, jsou excitační a emisní vlnové délky kontrolovány a odděleny. Složení fluorescenčního mikroskopu: zdroj světla, systém filtru a zrcadel, objektiv a detektor (v našem případě okulár s CCD kamerou). [25]

Zkoumané vzorky jsme zkoumali pod mikroskopem Zeiss Axio Imager.M2, který se řadí mezi epifluorescenční mikroskopy. Základní vlastností je, že silný zdroj světla (halogenová nebo xenonová lampa) osvicuje vzorek a výsledná fluorescence je optickou cestou poslaná na detektor. Výhody epifluorescenčního mikroskopu jsou, že má vyšší výkon při velkých zvětšeních, které jsou potřebná pro zachycení mikrobiálních buněk. Mezi další výhodu patří, že světlo přichází na vzorek shora a osvětluje povrch vzorku, proto lze analyzovat silné i neprůhledné vzorky. [25]



Obrázek 16: Princip epifluorescenčního mikroskopu [25]

### **Metoda DEFT**

Tato metoda oproti běžnému mikroskopickému stanovení kombinuje jak membránovou filtraci, tak fluorescenční barvení s mikroskopií. Díky membránové filtraci vzorku se mnohonásobně zvýší citlivost této metody. K barvení se nejčastěji používají akridinová oranž. [25]

K vyhodnocování jsme použili digitální fotoaparát Axio Cam ICc 1 napojený na mikroskop, kterým jsme zachytávali jednotlivé snímky zkoumaného vzorku. Fotoaparát byl propojený se softwarem AxioVision SE64, kde se snímky zobrazovaly a pomocí programu Matlab se snímky následně vyhodnocovaly.

## 9 Měření bakterie *E.coli*

### 1. Měření

Frekvence: 10 Hz

Intenzita: 10 mT

Legenda: \* Počáteční absorbance v zásobním roztoku před daným měřením.

Tabulka 2: Kontrolní vzorek *E. coli* při frekvenci 10 Hz a intenzitě 10 mT

| Doba měření | Absorbance | Kontrola          |                   |
|-------------|------------|-------------------|-------------------|
|             |            | 3 ředění (KTJ/ml) | 4 ředění (KTJ/ml) |
| 15 min      | 0,241*     | 13 200 000        | 16 200 000        |
| 30 min      | 0,280*     | 10 700 000        | 26 300 000        |
| 60 min      | 0,352*     | 14 000 000        | 19 800 000        |
| 90 min      | 0,451*     | 25 320 000        | 38 300 000        |

Tabulka 3: Vliv pulzního mag. pole na *E. coli* při frekvenci 10 Hz a intenzitě 10 mT

| Doba měření | Absorbance | Pulzní magnetické pole |                   |
|-------------|------------|------------------------|-------------------|
|             |            | 3 ředění (KTJ/ml)      | 4 ředění (KTJ/ml) |
| 15 min      | 0,241*     | 11 760 000             | 15 500 000        |
| 30 min      | 0,280*     | 6 400 000              | 13 800 000        |
| 60 min      | 0,352*     | 12 120 000             | 21 000 000        |
| 90 min      | 0,451*     | 25 200 000             | 60 500 000        |

Tabulka 4: Vliv stacionárního pole na *E. coli* při frekvenci 10 Hz a intenzitě 10 mT

| Doba měření | Absorbance | Stacionární pole  |                   |
|-------------|------------|-------------------|-------------------|
|             |            | 3 ředění (KTJ/ml) | 4 ředění (KTJ/ml) |
| 15 min      | 0,241*     | 12 800 000        | 22 000 000        |
| 30 min      | 0,280*     | 12 000 000        | 5 500 000         |
| 60 min      | 0,352*     | 18 400 000        | 23 000 000        |
| 90 min      | 0,451*     | 25 840 000        | 50 700 000        |

Tabulka 5: Data z fluorescence při frekvenci 10 Hz a intenzitě 10 mT

| Druh měření / Doba měření | Počet buněk celkem (n) | Viabilita (%) |
|---------------------------|------------------------|---------------|
| Kontrola / 15 min         | 300                    | 98,67         |
| Kontrola / 30 min         | 464                    | 96,98         |
| Kontrola / 60 min         | 124                    | 85,48         |
| Kontrola / 90 min         | 724                    | 99,03         |
|                           |                        |               |
| Pulzní pole / 15 min      | 70                     | 97,14         |
| Pulzní pole / 30 min      | 218                    | 99,54         |
| Pulzní pole / 60 min      | 96                     | 88,54         |
| Pulzní pole / 90 min      | 511                    | 96,67         |
|                           |                        |               |
| Stacionární pole / 15 min | 106                    | 94,34         |
| Stacionární pole / 30 min | 300                    | 100,00        |
| Stacionární pole / 60 min | 117                    | 91,45         |
| Stacionární pole / 90 min | 430                    | 99,77         |
|                           |                        |               |
| Zásobní baňka s bakterií  | 572                    | 100,00        |

## 2. Měření

Frekvence: 1 Hz

Intenzita: 100 mT

Legenda: \* Počáteční absorbance v zásobním roztoku před daným měřením.

Tabulka 6: Kontrolní vzorek *E. coli* při frekvenci 1 Hz a intenzitě 100 mT

| Doba měření | Absorbance | Kontrola          |                   |                   |
|-------------|------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|             |            | 4 ředění (KTJ/ml) | 5 ředění (KTJ/ml) | 6 ředění (KTJ/ml) |
| 15 min      | 0,218*     | 98 800 000        | 142 000 000       | 150 000 000       |
| 30 min      | 0,212*     | 113 200 000       | 169 000 000       | 170 000 000       |
| 60 min      | 0,214*     | 10 800 000        | 9 000 000         | 10 000 000        |
| 90 min      | 0,236*     | 110 000 000       | 146 000 000       | 240 000 000       |

Tabulka 7: Vliv pulzního mag. pole na *E. coli* při frekvenci 1 Hz a intenzitě 100 mT

| Doba měření | Absorbance | Pulzní magnetické pole |                   |                   |
|-------------|------------|------------------------|-------------------|-------------------|
|             |            | 4 ředění (KTJ/ml)      | 5 ředění (KTJ/ml) | 6 ředění (KTJ/ml) |
| 15 min      | 0,218*     | 110 000 000            | 109 000 000       | 200 000 000       |
| 30 min      | 0,212*     | 123 400 000            | 157 000 000       | 160 000 000       |
| 60 min      | 0,214*     | 24 000 000             | 27 000 000        | 10 000 000        |
| 90 min      | 0,236*     | 101 600 000            | 64 000 000        | 100 000 000       |

Tabulka 8: Vliv stacionárního pole na *E. coli* při frekvenci 1 Hz a intenzitě 100 mT

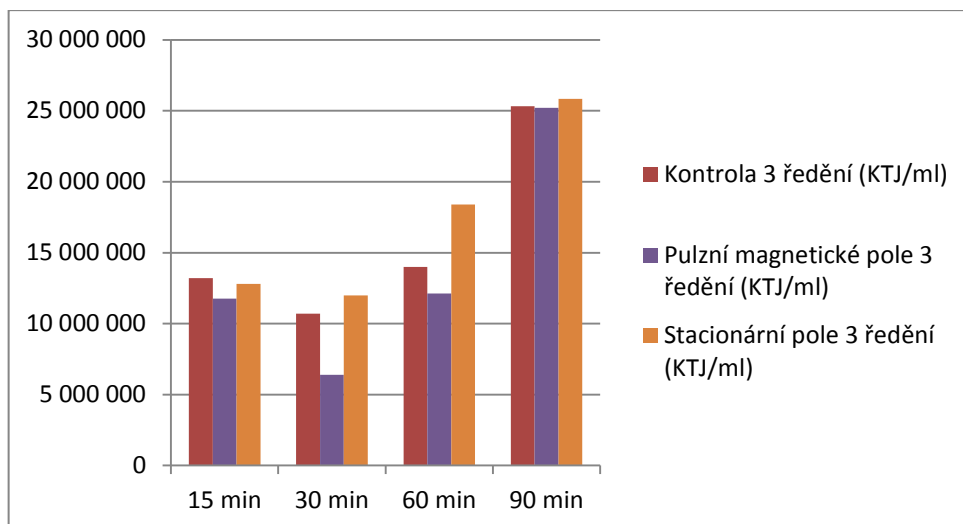
| Doba měření | Absorbance | Stacionární pole  |                   |                   |
|-------------|------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|             |            | 4 ředění (KTJ/ml) | 5 ředění (KTJ/ml) | 6 ředění (KTJ/ml) |
| 15 min      | 0,218*     | 76 000 000        | 114 000 000       | 80 000 000        |
| 30 min      | 0,212*     | 103 200 000       | 181 000 000       | 130 000 000       |
| 60 min      | 0,214*     | 87 600 000        | 40 000 000        | 100 000 000       |
| 90 min      | 0,236*     | 105 200 000       | 136 000 000       | 150 000 000       |

Tabulka 9: Data z fluorescence při frekvenci 1 Hz a intenzitě 100 mT

| Druh měření / Doba měření | Počet buněk celkem (n) | Viabilita (%) |
|---------------------------|------------------------|---------------|
| Kontrola / 15 min         | 569                    | 98,07         |
| Kontrola / 30 min         | 171                    | 97,08         |
| Kontrola / 60 min         | 173                    | 70,52         |
| Kontrola / 90 min         | 383                    | 80,42         |
|                           |                        |               |
| Pulzní pole / 15 min      | 557                    | 100,00        |
| Pulzní pole / 30 min      | 607                    | 75,95         |
| Pulzní pole / 60 min      | 491                    | 78,41         |
| Pulzní pole / 90 min      | 181                    | 48,07         |
|                           |                        |               |
| Stacionární pole / 15 min | 194                    | 100,00        |
| Stacionární pole / 30 min | 675                    | 98,81         |
| Stacionární pole / 60 min | 146                    | 74,66         |
| Stacionární pole / 90 min | 231                    | 91,77         |
|                           |                        |               |
| Zásobní baňka s bakterií  | 261                    | 100,00        |

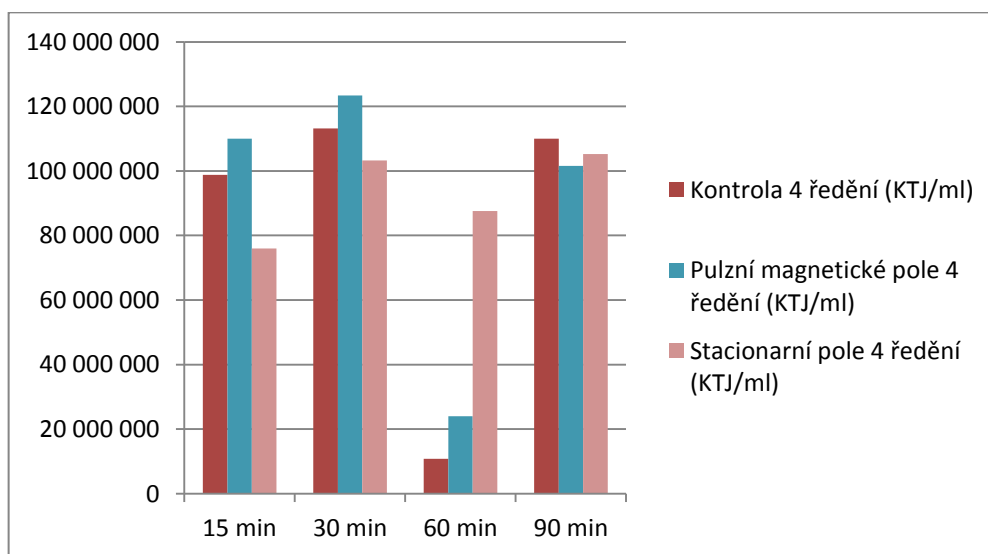
## 9.1 Výsledky z KTJ a fluorescence

Měření a odběry bakterií, které jsem prováděl v laboratoři, jsem pravidelně zaznamenával. Vyhodnocené výsledky jsem zanášel do tabulek, z kterých jsem zpracoval grafy. Vzorky jsem odebíral po dobu několika dní. U všech vzorku byl proveden kontrolní test, který sloužil pro porovnání.



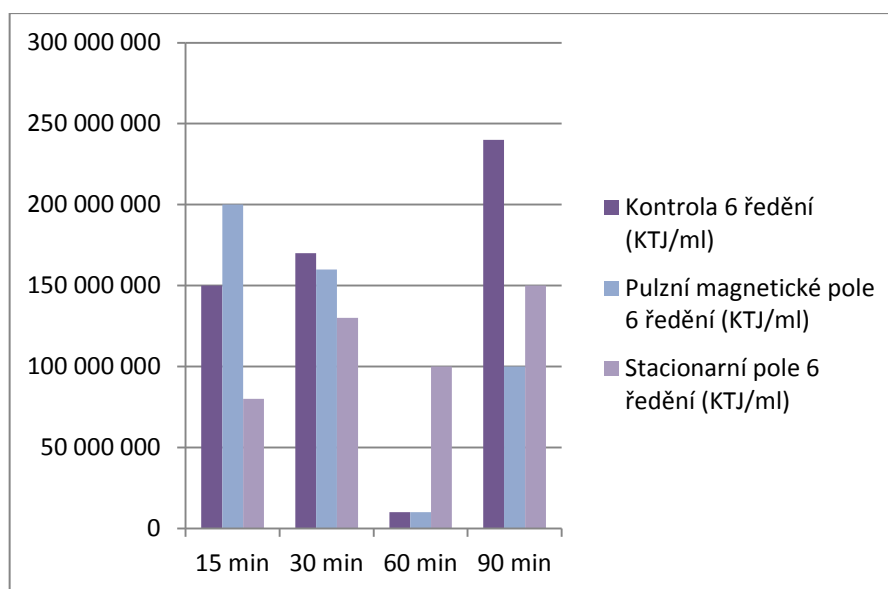
Graf 1: Vliv frekvence 10 Hz a intenzity 10 mT na bakterii *E. coli*, 3 ředění

Z grafu je patrné, že po 15 min vystavení bakterie *E. coli* vlivu pulzního magnetického pole dochází ke snížení počtu bakterií, které trvá až po námi měřený časový úsek tedy 90 minut. K největšímu snížení dochází po 30 minutách vystavení vzorku a to o cca 40,19 %. Tyto výsledky z grafu jsem porovnal s nalezenou literaturou, ve které je publikováno měření o frekvenci 50 Hz o intenzitě 10 mT po dobu 25 min. Výsledkem experimentu bylo, že počet KTJ u *E. coli* se také snížil a to o cca 30 %. Lze tedy konstatovat, že jsme došli k podobnému závěru při působení pouhých 10 Hz o intenzitě 10 mT.

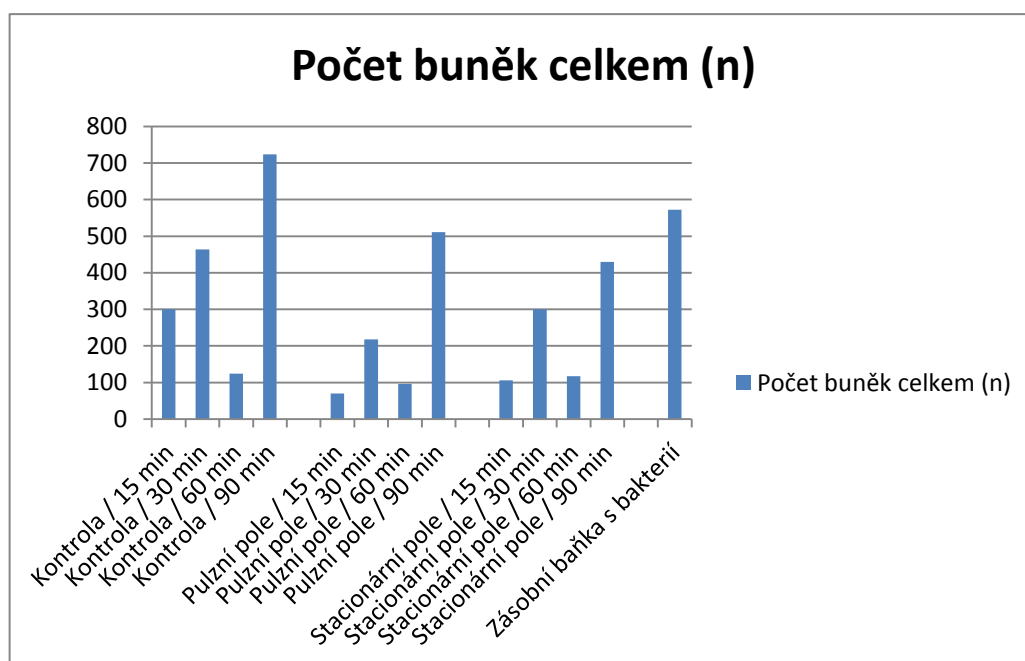


Graf 2: Vliv frekvence 1 Hz a intenzity 100 mT na bakterii *E. coli*, 4 ředění

V dalším grafu je zobrazen nárůst KTJ u *E. coli* při působení frekvence 1 Hz a intenzity 100 mT. Tento nárůst je patrný při měření 15 min, 30 min a 60 min. Navíc při 60 minutovém vystavení vzorku dochází k celkovému snížení počtu bakterií jak u kontrolního vzorku, tak u vzorku, který byl vystaven působením pulzního magnetického pole. Počet bakterií se snižuje vůči kontrole pouze při 90 min vystavení vzorku pulznímu magnetickému poli.



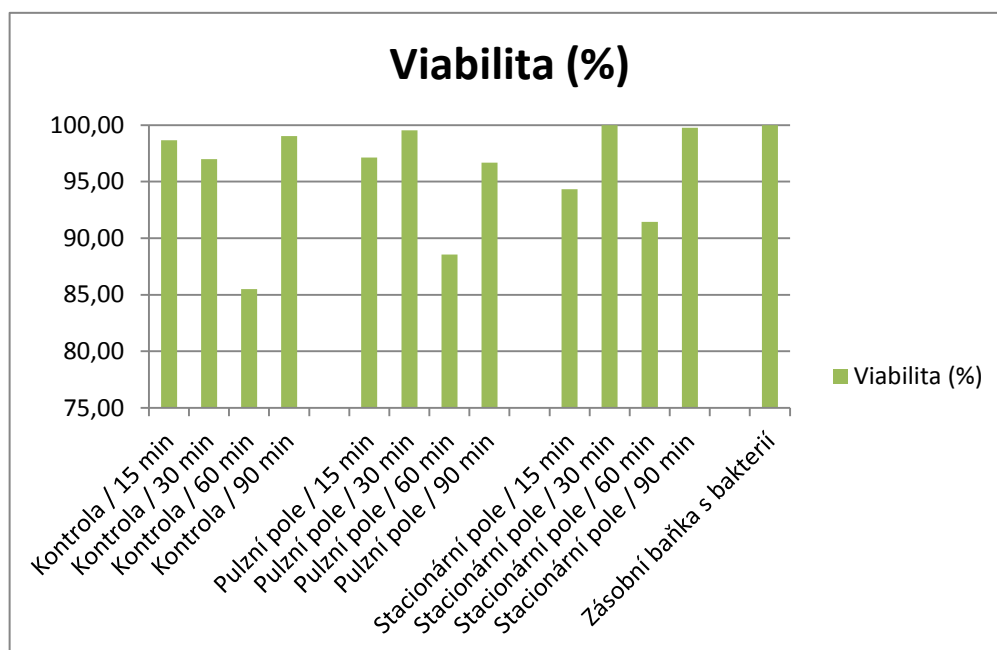
Graf 3: Vliv frekvence 1 Hz a intenzity 100 mT na bakterii *E. coli*, 6 ředění



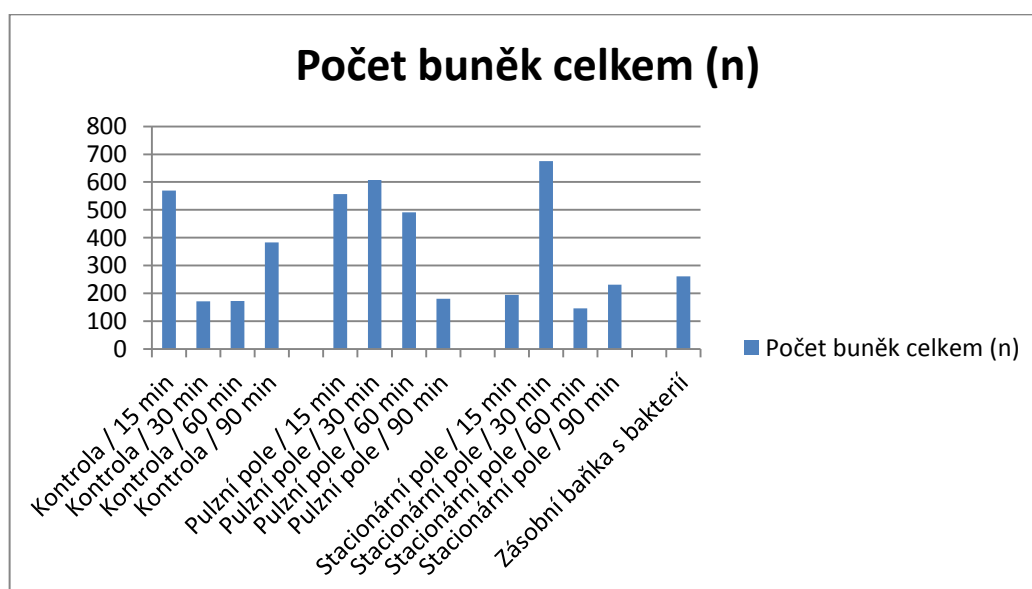
Graf 4: Výsledky získané fluorescencí (10 Hz, 10 mT) bakterii *E. coli*



Z výsledků získaných fluorescencí jsme došli ke stejnému výsledku jako u počítání KTJ, zde jsme také potvrdili snížení počtu bakterií po celý čas měření. K největšímu poklesu došlo při vystavení vzorku pulznímu magnetickému poli po dobu 30 minut. Počet bakterií *E. coli* se snížil o cca 53 % oproti kontrolnímu vzorku.

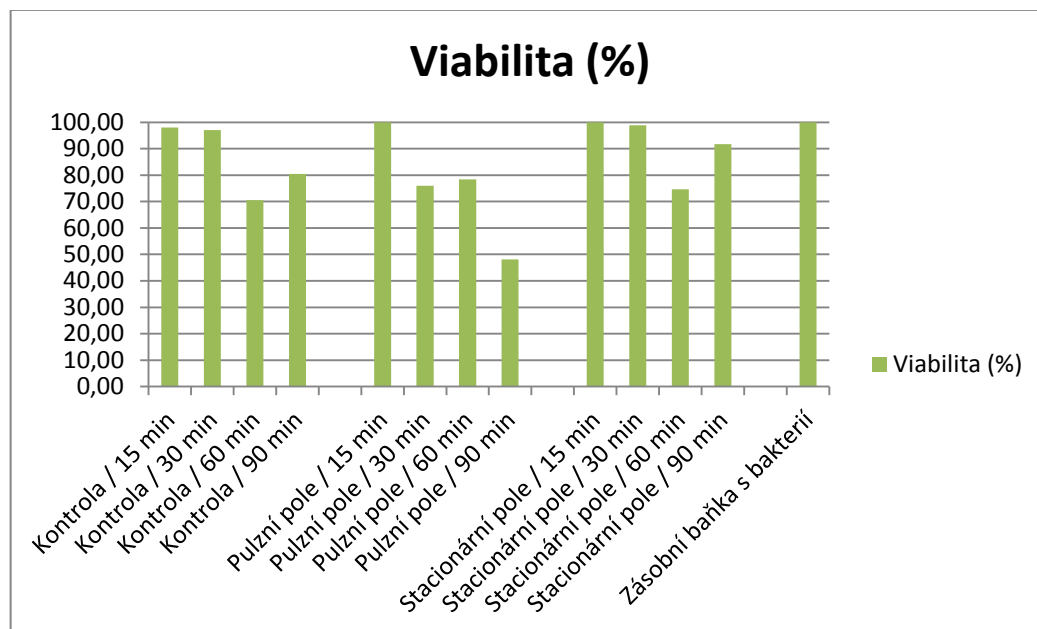


Graf 5: Životoschopnost bakterií (10 Hz, 10 mT) bakterii *E. coli*



Graf 6: Výsledky získané fluorescencí (1 Hz, 100 mT) bakterii *E. coli*

Data, které jsme získali vystavením vzorku frekvenci 1 Hz a 100 mT jsme zpracovali pomocí fluorescenční metody. Ze získaných výsledků můžeme potvrdit nárůst bakterií po 30 min a 60 min působení pulzního magnetického pole. Nárůst bakterií oproti předchozí metodě počítání je vyšší, konkrétně je zde nárůst bakterií vůči kontrole přes 200 %. Snížení nastává až při 90 min vystavení.



Graf 7: Životaschopnost bakterií (1 Hz, 100 mT) bakterii *E. coli*

## 10 Závěr

V této práci jsem zkoumal vliv pulzního magnetického pole na chování mikroorganismů. Konkrétně se jednalo o bakterii *Escherichia coli* a *Micrococcus Luteus*. Na začátku bakalářské práce jsem se seznámil s problematikou pulzního magnetického pole. Své poznatky jsem čerpal ze světové literatury, kde se touto problematikou zabývali. Výzkum jsem prováděl v mikrobiologické laboratoři TUL. Na pracovišti jsem byl seznámen s přístroji, které jsem využil při práci.

Mým hlavním cílem bylo pozorování vlivu pulzního magnetického pole na bakterie *Escherichia coli* a *Micrococcus Luteus*. Dospěl jsem k výsledku, že dochází ke snižování nebo zvyšování počtu bakterií vlivem působení různých frekvencí a intenzity pulzního magnetického pole. Důležitou roli zde hraje doba, po kterou je daná bakterie vystavena. Zpracované výsledky jsem porovnával s publikacemi, které se zabývaly tímto tématem. Výsledky mé práce se příliš nelišily z čerpané literatury a jejich výzkumu. Z jejich údajů lze říci, že vystavení bakterií frekvenci 50 Hz a intenzitě do 10 mT po dobu 20 min dochází ke snížení počtu bakterií. V mé práci jsem potvrdil snížení počtu bakterií na bakterii *Escherichia coli* vlivem pulzního magnetického pole. Při zpracování měření druhé bakterie *Micrococcus Luteus* nebylo provedeno měření z důvodu technické závady na přístroji. Dokončení měření druhé bakterie a zhotovené výsledky budu interpretovat při obhajobě této bakalářské práce.

Tato práce zahrnovala pouze část měření, proto nelze jednoznačně potvrdit vliv pulzního magnetického pole na mikroorganismy. I přesto jsme si vytvořili částečnou představu působení pulzního magnetického pole na dané mikroorganismy.

## 11 Zdroje

- [1] SEDLÁK, Bedřich. Elektřina a magnetismus. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Academia, 2002, 632 s. ISBN 80 – 200 – 1004 - 1 .
- [2] HAŇKA, Ladislav. *Teorie elektromagnetického pole*. 2. vyd. Praha: SNTL, 1982. ISBN 0450682.
- [3] ELEKTROMAGNETISMUS. IVÁNEK, Lubomír. *ELEKTROMAGNETISMUS: Základní pojmy* [online]. 2015 [cit. 2015-04 -14]. Dostupné z: <http://www.elearn.vsb.cz/archivcd/FEI/EMag/>
- [4] Materiály pro MAGNETICKÉ OBVODY [online]. 2010 [cit. 2014-12-16]. Dostupné z: [http://user.unob.cz /Leuchter/5\\_P%C5%98\\_BAK\\_imagnetick%C3%A9%20mat.pdf](http://user.unob.cz /Leuchter/5_P%C5%98_BAK_imagnetick%C3%A9%20mat.pdf)
- [5] *VYUŽITÍ PULZNÍHO MAGNETICKÉHO POLE PRO LÉČBU DĚTSKÉ MOZKOVÉ OBRNY* [online]. 2008 [cit. 2014-12-16]. Dostupné z: <https://dspace.vutbr.cz/bitstream/handle/11012/14213/bbce.pdf?sequence=1>
- [6] VYMĚTALOVÁ, Veronika. Biologie pro biomedicínské inženýrství. Vyd.1. Praha: Česká technika - nakladatelství ČVUT, 2008. ISBN 978-800-1040-133.
- [7] Bakteriální původci alimentárních onemocnění. STEC – Shiga-like toxigenní *Escherichia coli* [online]. 2014 [cit. 2014-12 -29]. Dostupné z: <http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/ec/index.html>
- [8] BARTOŇ, Marian. VLIV MAGNETICKÉHO POLE NA MIKROORGANISMY [online]. Liberec, 2012 [cit. 2015-02 -06]. Dostupné z: <http://knihovna-opac.tul.cz /externalResources/theses/24438?type=0&individualBuildingCatalogsEnabled=false>. Bakalářská práce. Ústav zdravotnických studií.
- [9] BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Vyd.1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80 -238-0297-6 .
- [10] PHARMA-REPORTS. Klinicky významné bakterie.1. Vyd. Praha: Triton, 2012. 123 s. ISBN 978-80 -7387-588-6
- [11] *ESCHERICHIA COLI*. *ESCHERICHIA COLI* [online]. 2015 [cit. 2015-04 -14]. Dostupné z: <https://www.tumblr.com/search/escherichia+coli>

- [12] FOJT, Lukáš, Luděk STRAŠÁK, Vladimír VETTERL a Jan ŠMARDA. Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* and *Staphylococcus aureus*. *Bioelectrochemistry*[online]. 2004, vol. 63, 1 - 2, s. 337-341 [cit. 2015-02 - 06]. DOI: 10 .1016/j.bioelechem.2003.11.010.
- [13] *International Journal of Research In Medical and Health Science IJRMHS*. The Cellular and Molecular Research Centre, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran: IJRMHS & K .A .J. All rights reserved, 2013. ISSN 2307-2083. Dostupné z: [http://www.ijsk.org/uploads/3/1/1/7/3117743/microbiology\\_2.pdf](http://www.ijsk.org/uploads/3/1/1/7/3117743/microbiology_2.pdf)
- [14] Cellini L, Grande R, DiCampi E, Di Bartolomeo S, Di Giulio M, et al. Bacterial response to the exposure of 50 Hz electromagnetic fields. *Bioelectromagnetic*. 2008; 29 (4):302-11
- [15] Strasak L, Vetterl V, Smarda J. Effect of low frequency magnetic fields on bacteria *Escherichia coli*. *Bioelectrochemistry*. 2002; 55 (1 - 2):161-4.)
- [16] *Micrococcus luteus*. MINIATLAS MIKROORGANISMŮ [online]. 2014 [cit. 2015-02 -06]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz /obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/micr.htm>
- [17] Microbe WORLD. *Microbe WORLD* [online]. 2014 [cit. 2015-04 -14]. Dostupné z: <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id =8054>
- [18] Major Differences: Difference between gram-positive and gram-negative bacteria. *Major Differences* [online]. 2014 [cit. 2015-04 -10]. Dostupné z: [http://www.majordifferences.com/2013/10/difference-gram-positive-vs - gram\\_2 .html#.VTVthSHtIBd](http://www.majordifferences.com/2013/10/difference-gram-positive-vs - gram_2 .html#.VTVthSHtIBd)
- [19] Anaerobe Systems. *Anaerobe Systems: Brain Heart Infusion Agar* [online]. 2014 [cit. 2015-04 -14]. Dostupné z: <https://sites.google.com/site/anaerobesystems/pricelist/Home/pras-mono-plated-media/Brain-Heart-Infusion-Agar>
- [20] TAQAVI, Mahdi a Saeed NAFISI. Study the Effects of High and Low Frequencies Pulsed Square Electromagnetic Fields on the Logarithmic Growth of the *E. coli*. *International Journal of Microbiological Research* 3. 2012, -. DOI: 10.5829/idosi.ijmr.2012.3.3.622.
- [21] Konzultace s Ing. Martinem Truhlářem, Ph.D, Liberec, 2015

- [22] Technology in science: CFU: Colony Forming Unit & Calculation. Technology in science: CFU: Colony Forming Unit & Calculation [online]. 2007 [cit. 2015-04-20]. Dostupné z: <http://technologyinscience.blogspot.cz/2011/11/cfu-colony-forming-unit-calculation.html#.VUGUVPntlBc>
- [23] WikiSkripta. *WikiSkripta: Spektrofotometrie* [online]. 2014 [cit. 2015-04 -14]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Spektrofotometrie>
- [24] Analýza léčiv. *Analýza léčiv: fotometrické metody* [online]. 2014 [cit. 2015-04 -14]. Dostupné z : <http://anl.zshk.cz/vyuka/fotometricke-metody.aspx>
- [25] BURSOVÁ, PH.D., MVDr. Šárka, Mgr. Marta DUŠKOVÁ, PH.D., MVDr. Lenka NECIDOVÁ, PH.D ., Doc. MVDr. Renáta KARPÍŠKOVÁ, PH.D. a Mgr. Petra MYŠKOVÁ. *Mikrobiologické laboratorní metody*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80 -7305-676-6 .

## Seznam příloh

### Příloha A

1. Fotografie: vyhodnocené vzorky E. coli
2. Fotografie: počítání KTJ E. coli

### Příloha B

1. Fotografie: Generátor pulzního pole (pohled ze shora)
2. Fotografie: Průběh pulzního magnetického pole (10 Hz, 10 mT)
3. Fotografie: Průběh pulzního magnetického pole (1 Hz, 100 mT)

### Příloha C

1. Fotografie: Z fluorescence (pulzní magnetické pole, 10 Hz a 10 mT, 90min)
2. Fotografie: Z fluorescence (pulzní magnetické pole, 1 Hz a 100 mT, 30 min)

### Příloha D

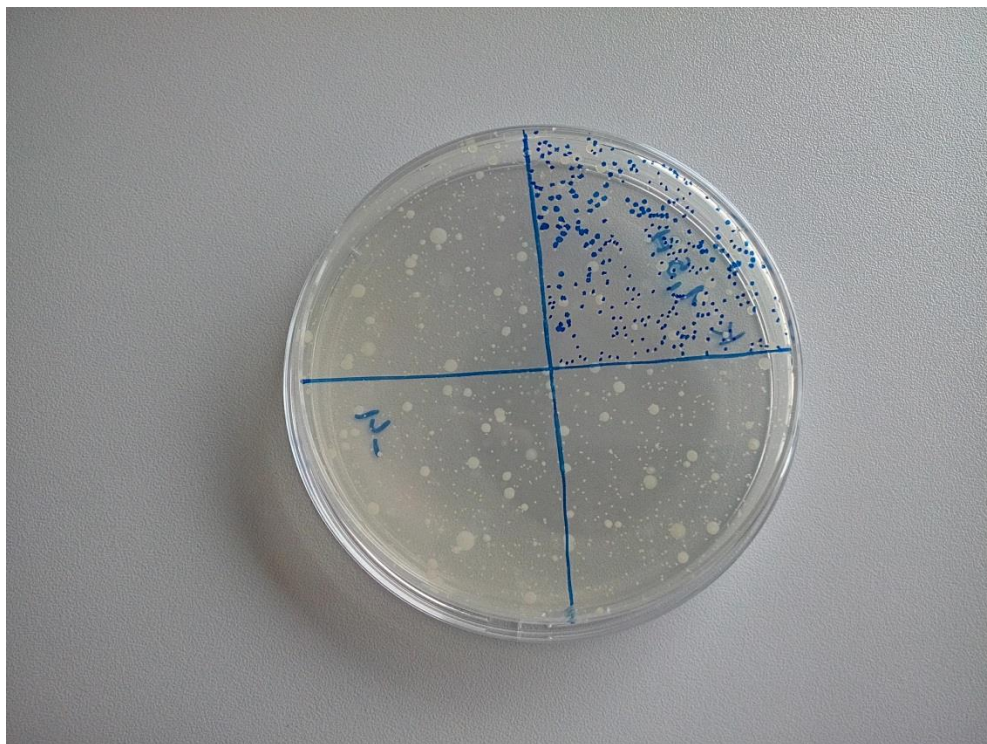
1. CD

## Příloha A

### 1. Fotografie: vyhodnocené vzorky *E. coli*



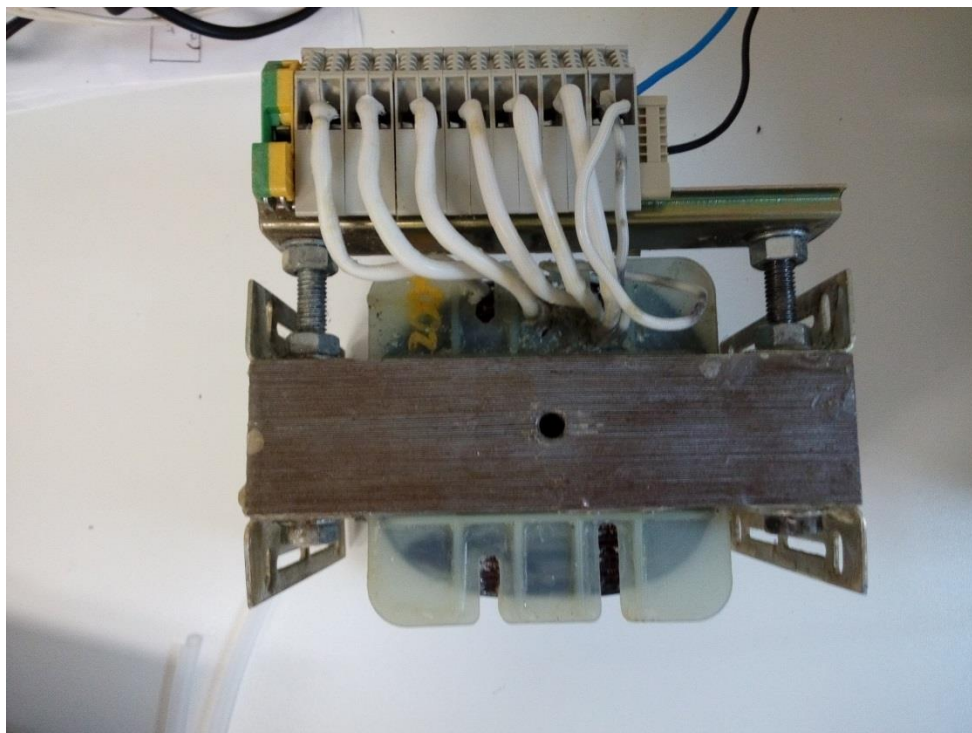
### 2. Fotografie: počítání KTJ *E. coli*





## Příloha B

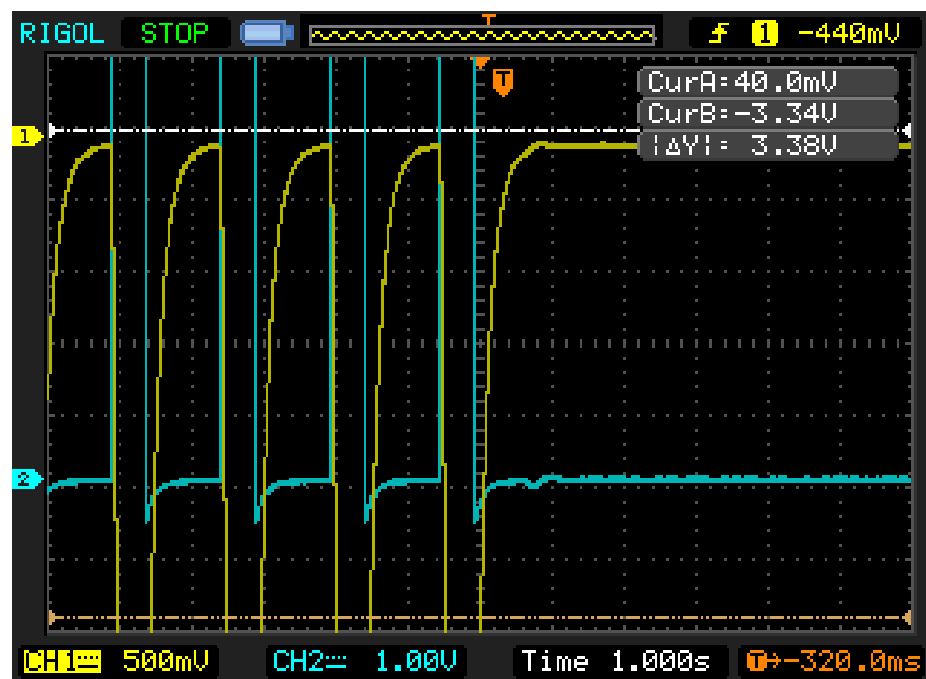
### 1. Fotografie: Generátor pulzního pole (pohled ze shora)



### 2. Fotografie: Průběh pulzního magnetického pole (10 Hz, 10 mT)

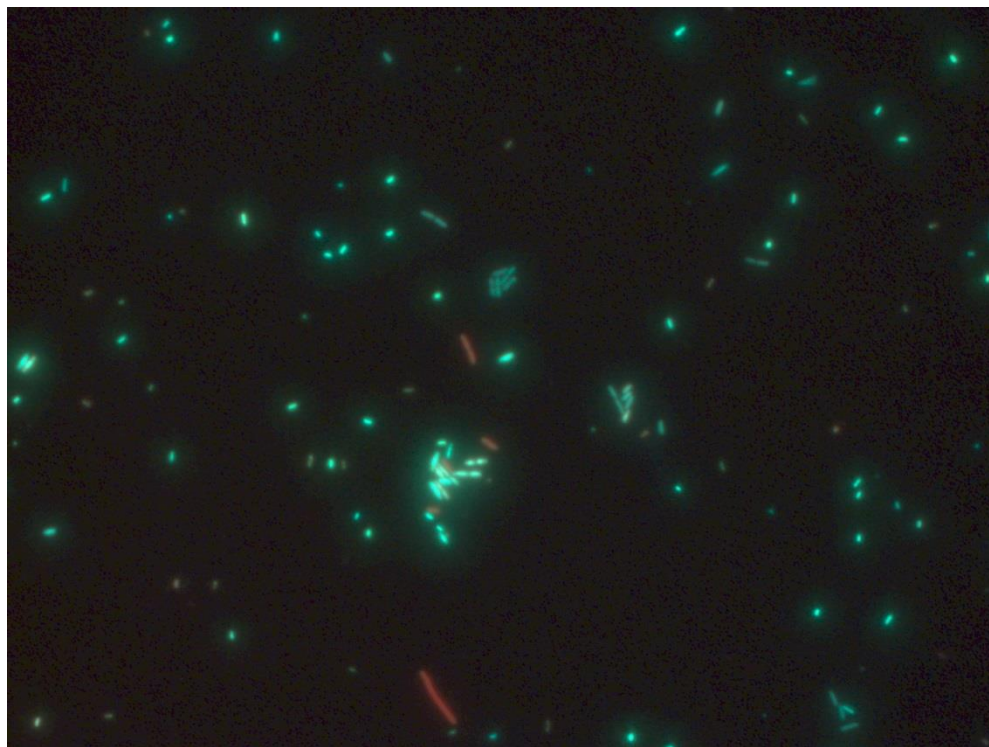


3. Fotografie: Průběh pulzního magnetického pole ( 1 Hz, 100 mT)

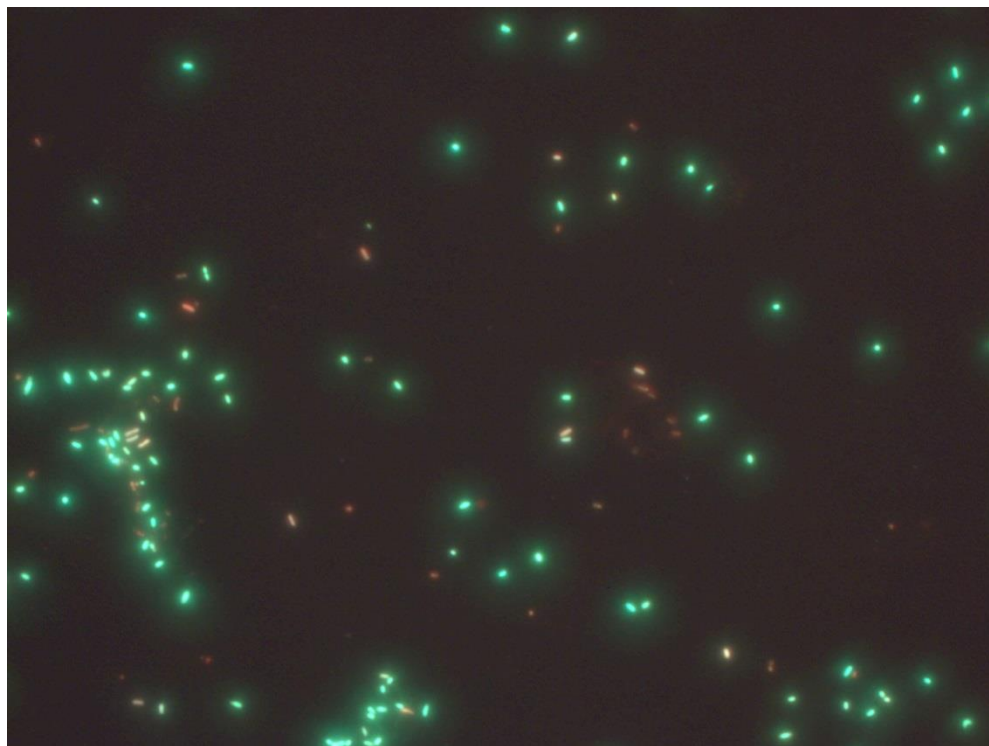


## Příloha C

### 1. Fotografie: Z fluorescence (pulzní magnetické pole, 10 Hz a 10 mT, 90min)



### 3. Fotografie: Z fluorescence (pulzní magnetické pole, 1 Hz a 100 mT, 30 min)



## Seznam obrázků, tabulek a grafů

|  |    |
|--|----|
| Obrázek 1: Prvotní magnetizace .....   | 19 |
| Obrázek 2: Hysterezní smyčka [1] .....   | 20 |
| Obrázek 3: Biotropní parametry obdélníkového pulzu [5] .....   | 22 |
| Obrázek 4: <i>Escherichia coli</i> pod mikroskopem [11] .....  | 27 |
| Obrázek 5: Závislost relativního počtu CFU na délce trvání expozice ( $B_m = 10$ mT) --- <i>E. coli</i> , --- <i>L. adecarboxylata</i> , --- <i>S. aureus</i> [12] .....       | 28 |
| Obrázek 6: Závislost relativního počtu CFU na velikosti magnetické indukce ( $t = 12$ min) --- <i>E. coli</i> , --- <i>L. adecarboxylata</i> , --- <i>S. aureus</i> [12] ..... | 29 |
| Obrázek 7: <i>Micrococcus luteus</i> pod mikroskopem [17] .....  | 32 |
| Obrázek 8: : Struktura gram-pozitivní bakterie [18] .....  | 33 |
| Obrázek 9: Struktura gram-negativní bakterie [18] .....  | 34 |
| Obrázek 10: Generátor pulzního pole .....  | 36 |
| Obrázek 11: 3D obraz generátoru pulzního pole [21] .....   | 37 |
| Obrázek 12: Simulace rozložení magnetického pole ve vzduchové mezeře [21] .....  | 37 |
| Obrázek 13: Blokové schéma experimentu .....   | 38 |
| Obrázek 14: Jednotlivé fáze postupu námi ředěného vzorku .....   | 39 |
| Obrázek 15: Princip spektrofotometru [22] .....  | 41 |
| Obrázek 16: Princip epifluorescenčního mikroskopu [24] .....   | 42 |
| <br>   |    |
| Tabulka 1: Soustava Maxwellových rovnic [1] .....  | 16 |
| Tabulka 2: Kontrolní vzorek <i>E. coli</i> při frekvenci 10 Hz a intenzitě 10 mT .....   | 44 |
| Tabulka 3: Vliv pulzního mag. pole na <i>E. coli</i> při frekvenci 10 Hz a intenzitě 10 mT .....   | 44 |
| Tabulka 4: Vliv stacionárního pole na <i>E. coli</i> při frekvenci 10 Hz a intenzitě 10 mT .....   | 44 |
| Tabulka 5: Data z fluorescence při frekvenci 10 Hz a intenzitě 10 mT .....   | 45 |
| Tabulka 6: Kontrolní vzorek <i>E. coli</i> při frekvenci 1 Hz a intenzitě 100 mT .....   | 45 |
| Tabulka 7: Vliv pulzního mag. pole na <i>E. coli</i> při frekvenci 1 Hz a intenzitě 100 mT .....   | 45 |
| Tabulka 8: Vliv stacionárního pole na <i>E. coli</i> při frekvenci 1 Hz a intenzitě 100 mT .....   | 46 |
| Tabulka 9: Data z fluorescence při frekvenci 1 Hz a intenzitě 100 mT .....   | 46 |
| <br>   |    |
| Graf 1: Vliv frekvence 10 Hz a intenzity 10 mT na bakterii <i>E. coli</i> , 3 ředění .....   | 47 |
| Graf 2: Vliv frekvence 1 Hz a intenzity 100 mT na bakterii <i>E. coli</i> , 4 ředění .....   | 47 |
| Graf 3: Vliv frekvence 1 Hz a intenzity 100 mT na bakterii <i>E. coli</i> , 5 ředění .....   | 48 |
| Graf 4: Výsledky získané fluorescencí (10 Hz, 10 mT) bakterii <i>E. coli</i> .....   | 48 |
| Graf 5: Životaschopnost bakterií (10 Hz, 10 mT) bakterii <i>E. coli</i> .....  | 49 |
| Graf 6: Výsledky získané fluorescencí (1 Hz, 100 mT) bakterii <i>E. coli</i> .....   | 49 |
| Graf 7: Životaschopnost bakterií (1 Hz, 100 mT) bakterii <i>E. coli</i> .....  | 50 |